

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2004 年 1 月 15 日 (15.01.2004)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 2004/005515 A1

(51) 国際特許分類: C12N 15/29, C12Q 1/68 // A01H 1/00

(21) 国際出願番号: PCT/JP2003/003154

(22) 国際出願日: 2003 年 3 月 17 日 (17.03.2003)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:
特願2002-197560 2002 年 7 月 5 日 (05.07.2002) JP

(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 日本たばこ産業株式会社 (JAPAN TOBACCO INC.) [JP/JP]; 〒105-8422 東京都港区虎ノ門2丁目2番1号 Tokyo (JP). シンジェンタ リミテッド (SYNGENTA LIMITED) [GB/GB]; GU2 7YH サリー ギルドフォード サリー・リサーチ・パーク プリーストリー・ロード ヨーロピアン・リージョナル・センター Surrey (GB).

(72) 発明者; および

(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 小森 俊之 (KOMORI, Toshiyuki) [JP/JP]; 〒438-0802 静岡県 磐田郡 豊田町 東原 700 番地 日本たばこ産業株式会社 植物イノベーションセンター内 Shizuoka (JP). 高倉 由光 (TAKAKURA, Yoshimitsu) [JP/JP]; 〒438-0802 静岡県 磐田郡 豊田町 東原 700 番地 日本たばこ産業株式会社 植物イノベーションセンター内 Shizuoka (JP). 樋江井 祐弘 (HIEI, Yuko) [JP/JP]; 〒438-0802 静岡県 磐田郡 豊田町 東原 700 番地 日本たばこ産業株式会社 植物イノベーションセンター内 Shizuoka (JP). 鈴木 庄一 (SUZUKI, Shoichi) [JP/JP]; 〒323-0808

栃木県 小山市 大字出井 1900 日本たばこ産業株式会社 たばこ事業本部内 Tochigi (JP). 倉屋 芳樹 (KURAYA, Yoshiki) [JP/JP]; 〒323-0808 栃木県 小山市 大字出井 1900 日本たばこ産業株式会社 たばこ事業本部内 Tochigi (JP).

(74) 代理人: 社本 一夫, 外 (SHAMOTO, Ichio et al.); 〒100-0004 東京都千代田区大手町二丁目2番1号新大手町ビル206区 ユアサハラ法律特許事務所 Tokyo (JP).

(81) 指定国 (国内): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国 (広域): ARIPO 特許 (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ特許 (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI 特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:
— 国際調査報告書

2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

(54) Title: STERILITY RECOVERY GENES TO RICE BT TYPE MALE STERILE CYTOPLASM

(54) 発明の名称: イネBT型雄性不稔細胞質に対する稔性回復遺伝子

(57) Abstract: It is intended to provide sterility recovery genes to rice BT type male sterile cytoplasm. A gene encoding a nucleic acid which has the amino acid sequence represented by SEQ ID NO:75 or an amino acid sequence having at least a 70% homology with the amino acid sequence represented by SEQ ID NO:75 and having an ability to restore sterility. It is preferable that the gene has a base sequence represented by any of SEQ ID NOS:69 to 74 and 80 to 85 or the base sequence represented by base nos. 43907 to 46279 in SEQ ID NO:27.

(57) 要約: 本発明は、イネBT型雄性不稔細胞質に対する稔性回復遺伝子を提供することを目的とする。本発明の遺伝子は、配列番号75のアミノ酸配列、又は配列番号75のアミノ酸配列と少なくとも70%同一のアミノ酸配列をコードする核酸であって、稔性回復機能を有する核酸を含む。本発明の遺伝子は、好ましくは配列番号69-74、80-85又は配列番号27の塩基43907-46279に記載の塩基配列を有する。



WO 2004/005515 A1

明細書

イネ B T 型雄性不稔細胞質に対する稔性回復遺伝子

5 発明の詳細な説明

技術分野

本発明は、イネ B T 型雄性不稔細胞質に対する稔性回復遺伝子に関する。

本出願は、2002年7月5日に提出された日本特許出願 特願2002-107560号を基礎とする優先権主張出願である。当該日本特許出願の内容は全て本明細書に援用される。

背景技術

イネは自殖性植物であるため、品種間で交雑を行う場合には、まず自家受精を避けるためにイネの穎花が開花する直前に穎花内の雄しべを全て取り除き、次いで交雑をする花粉親品種由来の花粉を用いて受精させる必要がある。しかしながら、このような手作業による交雑方法で商業的規模での大量の雑種種子を生産することは不可能である。

そこで、ハイブリッドライスの生産には、細胞質雄性不稔を利用する三系法が利用されている。三系法とは、雄性不稔細胞質を保有する系統である不稔系統、R f - 1 遺伝子を保有する系統である回復系統、および核遺伝子是不稔系統と同一であって不稔細胞質を保有しない系統である維持系統とを使用する方法をいう。これらの3系統を用いて、(i) 不稔系統に回復系統の花粉を受精させることによりハイブリッド種子を獲得することができ、(ii) 一方、不稔系統に維持系統の花粉を受精させることにより不稔系統を維持することができる。

三系法で B T 型雄性不稔細胞質を利用するにあたっては、回復系統のイネを育成するために、育種における各過程で育成中のイネが R f - 1 遺伝子を保有すること、また、最終段階では R f - 1 遺伝子をホモで保有することを確認する必要がある。また、三系法において、回復系統に使用する品種が確実に R f - 1 遺伝子を保有することを調べたり、得られたハイブリッド種子が稔性を回復しているか確認するために、R f - 1 遺伝子の存在を調べる必要が生じる場合もある。

従来、植物体中での R f - 1 遺伝子座の遺伝子型を推定するためには、まず、検定系統と交配を行った交配種子から植物体 (F 1) を形成し、次いで F 1 植物を自殖させてその種子の形成率が一定以上 (例えば 70 ~ 80 % 以上) である個体の出現頻度を調査する必要があった。なお、検定系統とは、維持系統、不稔系統あるいは両系統のセットを指し、目的とする被検定個体の細胞質が B T 型か通常細胞質か、あるいは不明かにより適宜選択するものである。不稔系統を検定系統として用いる場合は母親として、維持系統を検定系統として用いる場合は父親として、それぞれ被検定個体に交配する。

しかしながら、これらの方法を行うには、莫大な労力と時間を要する。また、種子稔性は、環境要因の影響を受けやすいので、低温・日照不足などの不良環境で調査すれば、遺伝子型の構成によらず不稔になる場合があり、R f - 1 遺伝子座の遺伝子型推定が正確に行えないという問題を有していた。

このような問題を解消するために、最近では、分子生物学的方法により R f - 1 遺伝子の存在を判別する方法も提案されている。それは、R f - 1 遺伝子と連鎖する塩基配列 (以下、DNA マーカーという) を検出することにより、R f - 1 遺伝子の存在または不存在を調べる方法である。因みに、R f - 1 遺伝子の DNA 配列は未解読であるため、直接 R f - 1 遺伝子を検出することは、現在の技術では不可能であった。

例えば、イネの R f - 1 遺伝子座は第 10 染色体上に存在し、そして、制限酵素断片長多型 (R F L P) 解析に使用することができる DNA マーカー (R F L P マーカー) 座 G 2 9 1 と G 1 2 7 との間であることが報告されている (F u k u t a e t a l . 1 9 9 2 , J p n J . B r e e d . 4 2 (s u p l . 1) 1 6 4 - 1 6 5) 。このため、R f - 1 遺伝子と連鎖する DNA マーカー座 G 2 9 1 および G 1 2 7 の遺伝子型を調査することにより、R f - 1 遺伝子座の遺伝子型を推定することが可能である。

しかしながら、従来の分子生物学的方法にはいくつかの問題が存在する。第一の問題は、従来の方法では、使用するマーカーが R F L P マーカーであり、これを検出するためにはサザンブロット解析を行う必要があるという点である。サザンブロット解析を行うためには、被検定個体から数マイクログラム単位の精製さ

れたDNAを必要とし、さらに制限酵素処理、電気泳動、ブロッティング、プローブとのハイブリダイゼーション、およびシグナルの検出からなる一連の作業手順を行う必要があるため、多大な労力が必要であるうえに、検定結果を得るまでに1週間程度かかっていた。

- 5 第二の問題は、RFLPマーカー座G291とG127の間の遺伝子地図距離は約30cM（イネDNAでは約9000kbpに相当する）と長いため、二重組換えが起こる可能性が数%程度はありと考えられ、Rf-1遺伝子座の遺伝子型が必ずしも正確に推定できないことである。

- 10 さらに第三の問題は、Rf-1遺伝子の存在をRFLPマーカー座G291およびG127の遺伝子型を調査することにより推定する場合、選抜の結果育成される稔性回復系統には、Rf-1遺伝子と共に、RFLPマーカー座G291とG127の間の遺伝子領域も導入されるという点である。その結果、導入DNA配列は30cM以上のRf-1遺伝子ドナー親由来の染色体領域を有することになり、導入DNA領域中に存在する可能性がある劣悪遺伝子をRf-1遺伝子と
15 同時に導入してしまう危険性があった。

- このような問題を解決するため、Rf-1遺伝子座と連鎖する優性DNAマーカー（特開平7-222588）および共優性DNAマーカー（特開平9-313187）が開発されている。これらのマーカーは、Rf-1遺伝子座とそれぞれ、 1.6 ± 0.7 cM（イネDNAでは約480kbpに相当）および 3.7 ± 1.1 cM（イネDNAでは約1110kbpに相当）の遺伝的距離で連鎖して
20 おり、両座はRf-1遺伝子座を挟む位置関係にある。そのため、優性PCRマーカー座および共優性PCRマーカー座は、これらが両方とも存在することを検出することにより、Rf-1遺伝子の存在を推定することができる。また、共優性PCRマーカーの使用は、Rf-1遺伝子座の遺伝子型がホモかヘテロかも
25 推定することを可能にする。

しかしながら、これらのPCRマーカーを使用する場合にも、依然としていくつかの問題がある。この共優性マーカーはRf-1遺伝子座と 3.7 ± 1.1 cMの遺伝距離を有するため、Rf-1遺伝子座との間での組換え頻度が高いという問題が十分には解決されていない。その結果、共優性マーカー自体については

ホモ型またはヘテロ型まで正確に検出することができるが、共優性マーカー座と R f - 1 遺伝子座との間で組換えが生じる場合に、R f - 1 遺伝子座の遺伝子型の推定、特にホモ型またはヘテロ型までの推定を正確に実施できないという問題がある。一方、優性マーカーを使用して R f - 1 遺伝子座の遺伝子型を推定する場合、優性マーカーでは R f - 1 遺伝子がホモの個体 (R f - 1 / R f - 1) およびヘテロの個体 (R f - 1 / r f - 1) の両方を区別することなく検出してしまふ。そのため、上記共優性マーカーと優性マーカーとを組み合わせを利用して R f - 1 遺伝子座の遺伝子型を推定したとしても、R f - 1 遺伝子に関するホモ型とヘテロ型とを正確に識別することはできない。また、優性マーカーを用いて行う P C R では、P C R 産物が得られなかった場合には、実験操作上の問題に起因する可能性も否定できない。さらに、これらの共優性マーカーと優性マーカーとの間の遺伝的距離が約 5 . 3 c M (約 1 5 9 0 k b p) と離れているため、R f - 1 遺伝子ドナー親からの導入染色体領域長を短い長さに限定することができないので、この領域中に含まれる劣悪遺伝子の持ち込みを抑制できないという問題点も有している。

さらに、特開 2 0 0 0 - 1 3 9 4 6 5 には、イネ第 1 0 染色体の R f - 1 遺伝子の近傍に座乗する R F L P マーカーの塩基配列に基づいて開発された、共優性 P C R マーカーが記載されている。しかしながら、それらの P C R マーカーは、依然として R f - 1 遺伝子からの遺伝的距離が約 1 c M より離れているという問題を有している。

発明の開示

本発明は、イネの稔性を回復する方法を提供することを目的とする。本発明の方法は、配列番号 7 5 のアミノ酸配列、又は配列番号 7 5 のアミノ酸配列と少なくとも 7 0 % 同一のアミノ酸配列をコードする核酸であって、稔性回復機能を有する核酸をイネに導入する、ことを含む。本発明の方法の、好ましい一態様において、配列番号 7 5 のアミノ酸配列、又は配列番号 7 5 のアミノ酸配列と少なくとも 7 0 % 同一のアミノ酸配列をコードする核酸であって、稔性回復機能を有する核酸は、以下の a) - p) の核酸から選択される：

a) 配列番号 6 9 の塩基 2 1 5 - 2 5 8 7 を含む核酸；

- b) 配列番号 70 の塩基 2 1 3 - 2 5 8 5 を含む核酸 ;
- c) 配列番号 71 の塩基 2 1 8 - 2 5 9 0 を含む核酸 ;
- d) 配列番号 72 の塩基 2 0 8 - 2 5 8 0 を含む核酸 ;
- e) 配列番号 73 の塩基 1 4 9 - 2 5 2 1 を含む核酸 ;
- 5 f) 配列番号 74 の塩基 2 2 5 - 2 5 9 7 を含む核酸 ;
- g) 配列番号 27 の塩基 4 3 9 0 7 - 4 6 2 7 9 を含む核酸 ;
- h) 配列番号 80 の塩基 2 2 9 - 2 6 0 1 を含む核酸 ;
- i) 配列番号 81 の塩基 1 7 5 - 2 5 4 7 を含む核酸 ;
- j) 配列番号 82 の塩基 2 2 7 - 2 5 9 9 を含む核酸 ;
- 10 k) 配列番号 83 の塩基 2 2 0 - 2 5 9 2 を含む核酸 ;
- l) 配列番号 84 の塩基 1 7 4 - 2 5 4 6 を含む核酸 ;
- m) 配列番号 85 の塩基 9 0 - 2 4 6 2 を含む核酸 ;
- n) 上記 a) - m) のいずれかの核酸と少なくとも 70 % 同一であり、かつ、稔性回復機能を有する核酸 ;
- 15 o) 上記 a) - m) のいずれかの核酸と中程度又は高程度のス 트리 ン ジ ェ ン ト な 条 件 下 で ハ イ ブ リ ダ イ ズ し、かつ、稔性回復機能を有する核酸 ; 及び
- p) 上記 a) - m) のいずれかの核酸に 1 ないし複数の塩基が欠失、挿入又は置換しており、かつ、稔性回復機能を有する核酸。
- 本発明の方法において、上記配列番号 75 のアミノ酸配列、又は配列番号
- 20 75 のアミノ酸配列と少なくとも 70 % 同一のアミノ酸配列をコードする核酸であって、稔性回復機能を有する核酸は、好ましくは、以下の条件 1) - 12) の少なくとも一つを満たす :
- 1) 配列番号 69 の塩基 1 7 6 9 に相当する塩基が A である ;
- 2) 配列番号 70 の塩基 1 7 6 7 に相当する塩基が A である ;
- 25 3) 配列番号 71 の塩基 1 7 7 2 に相当する塩基が A である ;
- 4) 配列番号 72 の塩基 1 7 6 2 に相当する塩基が A である ;
- 5) 配列番号 73 の塩基 1 7 0 3 に相当する塩基が A である ;
- 6) 配列番号 74 の塩基 1 7 7 9 に相当する塩基が A である ;
- 7) 配列番号 80 の塩基 1 7 8 3 に相当する塩基が A である ;

- 8) 配列番号 81 の塩基 1 7 2 9 に相当する塩基が A である；
- 9) 配列番号 82 の塩基 1 7 8 1 に相当する塩基が A である；
- 10) 配列番号 83 の塩基 1 7 7 4 に相当する塩基が A である；
- 11) 配列番号 84 の塩基 1 7 2 8 に相当する塩基が A である；又は
- 5 12) 配列番号 85 の塩基 1 6 4 4 に相当する塩基が A である。

本発明はまた、上記配列番号 75 のアミノ酸配列、又は配列番号 75 のアミノ酸配列と少なくとも 70% 同一のアミノ酸配列をコードする核酸であって、稔性回復機能を有する核酸を利用して、被検定イネ個体又は種子が Rf-1 遺伝子を有するか否かを識別する方法を提供することを目的とする。本発明の方法は、一

10 態様において、好ましくは、配列番号 75 のアミノ酸配列、又は配列番号 75 のアミノ酸配列と少なくとも 70% 同一のアミノ酸配列をコードする核酸であって、稔性回復機能を有する核酸が、以下の条件 1) - 12) の少なくとも一つを満たす場合に被検定イネ個体又は種子が Rf-1 遺伝子を有すると判断する：

- 1) 配列番号 69 の塩基 1 7 6 9 に相当する塩基が A である；
- 15 2) 配列番号 70 の塩基 1 7 6 7 に相当する塩基が A である；
- 3) 配列番号 71 の塩基 1 7 7 2 に相当する塩基が A である；
- 4) 配列番号 72 の塩基 1 7 6 2 に相当する塩基が A である；
- 5) 配列番号 73 の塩基 1 7 0 3 に相当する塩基が A である；
- 6) 配列番号 74 の塩基 1 7 7 9 に相当する塩基が A である；
- 20 7) 配列番号 80 の塩基 1 7 8 3 に相当する塩基が A である；
- 8) 配列番号 81 の塩基 1 7 2 9 に相当する塩基が A である；
- 9) 配列番号 82 の塩基 1 7 8 1 に相当する塩基が A である；
- 10) 配列番号 83 の塩基 1 7 7 4 に相当する塩基が A である；
- 11) 配列番号 84 の塩基 1 7 2 8 に相当する塩基が A である；又は
- 25 12) 配列番号 85 の塩基 1 6 4 4 に相当する塩基が A である。

本発明は、さらに、Rf-1 遺伝子の稔性回復機能を抑制する方法を提供することを目的とする。本発明の抑制方法は、一態様において、配列番号 75 のアミノ酸配列、又は配列番号 75 のアミノ酸配列と少なくとも 70% 同一のアミノ酸配列をコードする核酸であって、稔性回復機能を有する核酸、に対し相補的な塩

基配列から選択される、連続した少なくとも100塩基の長さのアンチセンスを導入する、ことを含む。

本発明はさらにまた、配列番号75のアミノ酸配列、又は配列番号75のアミノ酸配列と少なくとも70%同一のアミノ酸配列をコードする核酸であって、稔性回復機能を有する核酸、を提供することを目的とする。本発明は、一態様において、以下のa) - p)

a) 配列番号69の塩基215-2587を含む核酸；

b) 配列番号70の塩基213-2585を含む核酸；

c) 配列番号71の塩基218-2590を含む核酸；

10 d) 配列番号72の塩基208-2580を含む核酸；

e) 配列番号73の塩基149-2521を含む核酸；

f) 配列番号74の塩基225-2597を含む核酸；

g) 配列番号27の塩基43907-46279を含む核酸；

h) 配列番号80の塩基229-2601を含む核酸；

15 i) 配列番号81の塩基175-2547を含む核酸；

j) 配列番号82の塩基227-2599を含む核酸；

k) 配列番号83の塩基220-2592を含む核酸；

l) 配列番号84の塩基174-2546を含む核酸；

m) 配列番号85の塩基90-2462を含む核酸；

20 n) 上記a) - m) のいずれかの核酸と少なくとも70%同一であり、かつ、稔性回復機能を有する核酸；

o) 上記a) - m) のいずれかの核酸と中程度又は高程度のストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、稔性回復機能を有する核酸；及び

25 p) 上記a) - m) のいずれかの核酸に1ないし複数の塩基が欠失、挿入又は置換しており、かつ、稔性回復機能を有する核酸から選択される核酸を提供する。

図面の簡単な説明

図1は、RFLPマーカー座S12564を起点とする染色体歩行の結果を示す。

図 2 は、B A C クローン A C 0 6 8 9 2 3 とラムダクローンコンティグとの位置関係を示す。

図 3 は、R f - 1 座極近傍組換え型花粉（いずれも稔性あり）の R f - 1 座極近傍の染色体構成を、その花粉から生じた 1 0 個体（R S 1、R S 2、R C 1 - 8）のマーカー座の遺伝子型に基づき、明らかにした結果を示したものである。白抜き部分はジャポニカ型領域を、黒部分はインディカ型領域を示す。

図 4 は、第 1 0 染色体上のマーカー座と R f - 1 座との連鎖分析の結果に基づき、R f - 1 座の連鎖地図上での位置を示したものである。地図距離は、1 0 4 2 F 1 個体の分離データから算出した。

図 5 は、相補性試験による R f - 1 領域の同定のために使用した、1 0 個のゲノムクローン由来の断片を示す。染色体歩行により得られた λ クローン（細い線）を用いて、太い直線で示した染色体領域について相補性試験を行った。X S F 1 8 は、欠失を含むクローンであることが分かったので、その欠失部分は点線で示した。

図 6 は、X S G 1 6 由来の 1 5 . 7 k b（実施例 1 0）及び X S F 1 8 由来の 1 6 . 2 k b 断片（実施例 8）を用いた相補性試験の結果を示す。X S G 1 6 由来の 1 5 . 7 k b では稔性が回復し、稲穂がたれている。

図 7 は、R f - 1 遺伝子構造の模式図を示す。白棒部分および黒線部分は、それぞれエキソンおよびイントロンを示す。エキソン部分については、塩基対数を示してある。

図 8 は、相補性試験を行った I R 2 4 ゲノム断片、c D N A ライブラリースクリーニングに用いたプローブ及び単離した c D N A から推定した R f - 1 遺伝子の位置関係の模式図を示す。R f - 1 遺伝子の白棒部分および黒線部分は、それぞれ、エキソンおよびイントロンを示す。エキソン部分については、塩基対数を示してある。

発明を実施するための最良の形態

本発明者らは、まず、R f - 1 の存在部位を第 1 0 染色体上の極めて狭い範囲に特定した。その結果に基づいて、R f - 1 遺伝子座の近傍に存在する P C R マーカーを開発し、これらの P C R マーカーが、R f - 1 遺伝子座と連鎖すること

を利用して、R f - 1 遺伝子を検出する方法が見出された。具体的には、R f - 1 遺伝子座が、イネ第 10 染色体上に存在する P C R マーカー座 S 1 2 5 6 4 T s p 5 0 9 I 座と C 1 3 6 1 M w o I 座との間に座乗することを利用し、近傍に存在する新規の P C R マーカー座の遺伝子型を調査することにより、

5 R f - 1 遺伝子の有無の調査および R f - 1 遺伝子ホモ型個体の選抜を実施する。当該 R f - 1 遺伝子を検出する方法につき、本発明者らは、平成 12 年 8 月 17 日に特願 2000-247204 として特許出願を行っている。当該出願の全内容は参考文献として本明細書に援用される。

I. 特願 2000-247204 に記載の R f - 1 遺伝子座の遺伝子型を推

10 定する方法

特願 2000-247204 は、R f - 1 遺伝子座がイネ第 10 染色体上の R F L P マーカー座 S 1 2 5 6 4 座と C 1 3 6 1 座との間に座乗することを利用して、被検定イネ個体または種子が R f - 1 遺伝子を持つか否かを識別する方法について記載している。

15 マーカー

R f - 1 遺伝子座の近傍に存在する特定の領域に対して設計したプライマー対を用いて P C R を行い、その産物を特定の制限酵素で処理後電気泳動にかけると、ジャポニカ系統とインディカ系統との間で、異なる大きさのバンドが観察されることがある。そのような場合、インディカ系統に特徴的なバンドを R f - 1

20 連鎖バンドとする。本発明者らにより、R f - 1 遺伝子座は、イネ第 10 染色体上に存在する P C R マーカー座 S 1 2 5 6 4 T s p 5 0 9 I 座と C 1 3 6 1 M w o I 座との間に座乗することが明らかにされ、その周辺での P C R マーカーは当業者が適宜開発して使用可能となった。

例えば、下記の群から選択される P C R マーカーの少なくとも 1 個を被検体イ

25 ネのゲノム中に存在するか否か検出することにより、被検定個体がこれらの P C R マーカーと連鎖する R f - 1 遺伝子を持つか否かを識別する：

(1) マーカー 1： 配列番号 1 および配列番号 2 の配列を有する D N A をプライマーとして用いてゲノミック P C R を行い、得られた産物中の、制限酵素

E c o R I 認識部位の有無に基づいて、ジャポニカ系統とインディカ系統のイネの間の多型を検出する、P C R マーカー R 1 8 7 7 E c o R I ;

(2) マーカー 2 : 配列番号 3 および配列番号 4 の配列を有する D N A をプライマーとして用いてゲノミック P C R を行い、得られた産物中の、制限酵素
5 H i n d I I I 認識部位の有無に基づいて、ジャポニカ系統とインディカ系統のイネの間の多型を検出する、P C R マーカー G 4 0 0 3 H i n d I I I (配列番号 1 9) ;

(3) マーカー 3 : 配列番号 5 および配列番号 6 の配列を有する D N A をプライマーとして用いてゲノミック P C R を行い、得られた産物中の、制限酵素
10 M w o I 認識部位の有無に基づいて、ジャポニカ系統とインディカ系統のイネの間の多型を検出する、P C R マーカー C 1 3 6 1 M w o I (配列番号 2 0) ;

(4) マーカー 4 : 配列番号 7 および配列番号 8 の配列を有する D N A をプライマーとして用いてゲノミック P C R を行い、得られた産物中の、制限酵素
15 M w o I 認識部位の有無に基づいて、ジャポニカ系統とインディカ系統のイネの間の多型を検出する、P C R マーカー G 2 1 5 5 M w o I (配列番号 2 1) ;

(5) マーカー 5 : 配列番号 9 および配列番号 1 0 の配列を有する D N A をプライマーとして用いてゲノミック P C R を行い、得られた産物中の、制限酵
20 素 M s p I 認識部位の有無に基づいて、ジャポニカ系統とインディカ系統のイネの間の多型を検出する、P C R マーカー G 2 9 1 M s p I (配列番号 2 2) ;

(6) マーカー 6 : 配列番号 1 1 および配列番号 1 2 の配列を有する D N A をプライマーとして用いてゲノミック P C R を行い、得られた産物中の、制限
25 酵素 B s l I 認識部位の有無に基づいて、ジャポニカ系統とインディカ系統のイネの間の多型を検出する、P C R マーカー R 2 3 0 3 B s l I (配列番号 2 3) ;

(7) マーカー 7 : 配列番号 1 3 および配列番号 1 4 の配列を有する D N A をプライマーとして用いてゲノミック P C R を行い、得られた産物中の、制限

酵素BstUI認識部位の有無に基づいて、ジャポニカ系統とインディカ系統のイネの間の多型を検出する、PCRマーカーS10019 BstUI（配列番号24）；

- （8）マーカー8： 配列番号15および配列番号16の配列を有するDNAをプライマーとして用いてゲノミックPCRを行い、得られた産物中の、制限酵素KpnI認識部位の有無に基づいて、ジャポニカ系統とインディカ系統のイネの間の多型を検出する、PCRマーカーS10602 KpnI（配列番号25）；および

- （9）マーカー9： 配列番号17および配列番号18の配列を有するDNAをプライマーとして用いてゲノミックPCRを行い、得られた産物中の、制限酵素Tsp509I認識部位の有無に基づいて、ジャポニカ系統とインディカ系統のイネの間の多型を検出する、PCRマーカーS12564 Tsp509I（配列番号26）。

- なお、上記PCRマーカーは、Rf-1遺伝子座が、イネ第10染色体上の9個のRFLPマーカー領域R1877、G291、R2303、S12564、C1361、S10019、G4003、S10602、およびG2155付近に座乗する可能性が高いと考え（Fukuta et al. 1992, Jpn J. Breed. 42 (supl. 1) 164-165によるRFLP連鎖解析結果、およびHarushima et al. 1998, Genetics 148 479-494によるイネRFLP連鎖地図を参照）、これらのRFLPマーカーを、後記参考例1に記載するようにして、共優性PCRマーカーであるCAPSマーカーまたはdCAPSマーカー（Michaels and Amasino 1998, The Plant Journal 14 (3) 381-385; Neff et al. 1998, The plant Journal 14 (3) 387-392）に変換した。この変換により、上記PCRマーカーが得られた。

これらのPCRマーカーのうち、PCRマーカーR1877 EcoRI、G291 MspI（配列番号22）、R2303 BslI（配列番号23）およびS12564 Tsp509I（配列番号26）からなる群と、P

CRマーカーC1361 MwoI（配列番号20）、S10019 BstUI（配列番号24）、G4003 HindIII（配列番号19）、S10602 KpnI（配列番号25）、およびG2155 MwoI（配列番号21）からなる群とは、第10染色体上でRf-1遺伝子座を挟んで反対側に存在する。

従って、一態様において、（a）PCRマーカーR1877 EcoRI、G291 MspI、R2303 BslIおよびS12564 Tsp509Iからなる群から選択される少なくとも1個のPCRマーカー、並びに（b）PCRマーカーC1361 MwoI、S10019 BstUI、G4003 HindIII、S10602 KpnI、およびG2155 MwoIからなる群から選択される少なくとも1個のPCRマーカーによりRf-1連鎖バンドを検出することにより、Rf-1遺伝子の存在を検出する。その際、上記（a）の群からRf-1遺伝子に最も近いマーカーとして、少なくともPCRマーカーS12564 Tsp509Iおよび上記（b）の群から少なくともC1361 MwoIを使用することが好ましい。被検定イネのゲノム中に、（a）のPCRマーカーによるRf-1連鎖バンドと（b）のPCRマーカーによるRf-1連鎖バンドの両方が検出されれば、そのイネがRf-1遺伝子を有する可能性を高い確率で推定することができる。

別の態様においては、上記（a）の群から少なくとも二つのPCRマーカー、及び（b）の群から少なくとも二つのPCRマーカーによりRf-1連鎖バンドを検出する。例えば、（a）及び（b）の群のマーカーのうち、図1に示す遺伝子地図において、Rf-1遺伝子により近いマーカーによりRf-1連鎖バンドが検出され、それよりRf-1遺伝子から遠いマーカーによりRf-1連鎖バンドが検出されないイネ個体を選抜することにより、Rf-1遺伝子を有するが、不要な遺伝子領域をできるだけ含まないイネを選抜することが可能である。この場合も、（a）及び（b）の各群のマーカーのうち少なくとも一つは、それぞれPCRマーカーS12564 Tsp509IおよびC1361 MwoIであることが好ましい。すなわち、2種のPCRマーカー座S12564 Tsp509IとC1361 MwoIは、マーカー座間距離にして0.3cM離

れている。この性質を利用することにより、R f - 1 遺伝子ドナー親から導入する染色体領域を1 c M程度に狭めることができる。その結果、ドナー親のR f - 1 遺伝子近傍に存在する可能性がある劣悪遺伝子が回復系統に導入される可能性を最小限に抑えることができる。

5 R f - 1 遺伝子の検出

被検定イネゲノム中のR f - 1 遺伝子を検出するには、上記配列番号1 - 1 8のプライマーを用いて、被検定イネゲノムから上記P C RマーカのいずれかをP C Rで増幅させ、ポリメラーゼ連鎖反応-制限酵素断片長多型（P C R - R F L P）法で検出する。P C R - R F L P法は、比較する品種系統間において、P C Rにより増幅したDNA断片配列中の制限酵素認識部位に多型が存在する場合
10 C Rにより増幅したDNA断片配列中の制限酵素認識部位に多型が存在する場合に、その制限酵素による切断パターンからいずれの型であるかを簡便に決定する方法である（D. E. H a r r y, e t a l., T h e o r A p p l G e n e t （1998） 97:327-336）。

制限酵素による切断パターンとしては、可視化されたゲル上に、使用したプライマー対に応じて、以下の表1のようなバンドの存在の有無が確認される。
15

表 1

	検出されるバンドの およそのサイズ（b p）

20 プライマー対1によるマーカー1の検出（R1877 EcoRI）	
被検定イネゲノムがRf-1遺伝子をホモに有する場合：	1500及び1700
被検定イネゲノムがRf-1遺伝子をヘテロに有する場合：	1500、1700及び3200
被検定イネゲノムがRf-1遺伝子を持たない場合：	3200

25 プライマー対2によるマーカー2の検出（G4003 HindIII）	
被検定イネゲノムがRf-1遺伝子をホモに有する場合：	362
被検定イネゲノムがRf-1遺伝子をヘテロに有する場合：	95、267及び362
被検定イネゲノムがRf-1遺伝子を持たない場合：	95及び267

 プライマー対 3 によるマーカー 3 の検出 (C1361 MwoI)

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子をホモに有する場合： 50及び107

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子をヘテロに有する場合： 25、50、79及び107

5 被検定イネゲノムがRf-1遺伝子を持たない場合： 25、50及び79

プライマー対 4 によるマーカー 4 の検出 (G2155 MwoI)

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子をホモに有する場合： 25、27及び78

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子をヘテロに有する場合： 25、27、78及び105

10 被検定イネゲノムがRf-1遺伝子を持たない場合： 25及び105

プライマー対 5 によるマーカー 5 の検出 (G291 MspI)

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子をホモに有する場合： 25、49及び55

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子をヘテロに有する場合： 25、49、55及び104

15 被検定イネゲノムがRf-1遺伝子を持たない場合： 25及び104

プライマー対 6 によるマーカー 6 の検出 (R2303 BslI)

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子をホモに有する場合： 238、655及び679

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子をヘテロに有する場合： 238、655、679

20 及び1334

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子を持たない場合： 238及び1334

プライマー対 7 によるマーカー 7 の検出 (S10019 BstUI)

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子をホモに有する場合： 130、218及び244

25 被検定イネゲノムがRf-1遺伝子をヘテロに有する場合： 130、218、244

及び462

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子を持たない場合： 130及び462

プライマー対 8 によるマーカー 8 の検出 (S10602 KpnI)

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子をホモに有する場合： 724

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子をヘテロに有する場合： 117, 607及び724

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子を持たない場合： 117及び607

5 プライマー対9によるマーカー9の検出 (S12564 Tsp509I)

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子をホモに有する場合： 41及び117

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子をヘテロに有する場合： 26, 41, 91及び117

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子を持たない場合： 26, 41及び91

10

I I. R f - 1 遺伝子座領域の特定

以上、特願2000-247204において、R f - 1 遺伝子座がDNAマーカー座S 1 2 5 6 4 T s p 5 0 9 IとC 1 3 6 1 M w o I座との間に座乗することが本発明者らにより明らかにされ、これを利用したR F L P - P C R用マ

15 ーカーが記載されている。R f - 1 遺伝子を持たない通常のジャポニカ品種に、戻し交雑によりR f - 1 遺伝子を導入することにより回復系統が育成される。その過程で、特願2000-247204に記載のR f - 1 遺伝子座の識別方法を用いると、回復系統の育成が効率的（必要期間は2～3年）になるだけでなく、導入断片長を制御することができる。

20 しかしながら、交雑による導入では、R f - 1 極近傍領域をも同時に導入することは避けられない。特願2000-247204において、R f - 1 遺伝子座がDNAマーカー座S 1 2 5 6 4 T s p 5 0 9 IとC 1 3 6 1 M w o I座との間に座乗することが解明されたが、両遺伝子座は約0.3 c M、即ち約90 k b pである。仮にR f - 1 極近傍に劣悪遺伝子が存在すれば、R f - 1 遺伝子と

25 もにその劣悪遺伝子も導入される可能性が否定できない。

そこで、本発明者らはDNAマーカー座S 1 2 5 6 4 T s p 5 0 9 IとC 1 3 6 1 M w o I座の間の領域について、R f - 1 遺伝子座とDNAマーカー座S 1 2 5 6 4 T s p 5 0 9 Iとが密接連鎖することを手がかりに、染色体歩行および遺伝学的解析を行うことにより、R f - 1 遺伝子と連鎖する領域を調べ

た。その結果、R f - 1 遺伝子を含むR f - 1 遺伝子座領域を約76 kbまで特定し、そして当該領域の全塩基配列を決定することに成功した。本発明により、BT型雄性不稔細胞質に対する稔性回復遺伝子の機能を遺伝子工学的に導入することが可能となった。

5 具体的には、特願2000-247204では、MSコシヒカリにMS-FRコシヒカリ（R f - 1 座ヘテロ）の花粉をかけて作成した集団1042個体を用いて連鎖分析を行い、R f - 1 座とS12564 T s p 5 0 9 I 座との間での組換え個体を1個体、R f - 1 座とC1361 M w o I 座との間での組換え個体を2個体見出した（本明細書中の参考例1-2）。本発明では、上記集団をさら
10 らに4103個体追加し、合計5145個体として解析を行った。その結果、新たに、R f - 1 座とS12564 T s p 5 0 9 I 座との間での組換え個体を1個体、R f - 1 座とC1361 M w o I 座との間での組換え個体を6個体見出し、それぞれの組換え個体の合計を2個体および8個体とした。これら10個体をR f - 1 座極近傍組換え個体として、本発明の高精度分離分析に供試すること
15 とした（実施例1）。

 R f - 1 座とS12564 T s p 5 0 9 I 座との間での組換え個体が2個体に対し、C1361 M w o I 座との間での組換え個体が8個体という上記の組換え個体出現頻度は、S12564 T s p 5 0 9 I 座とC1361 M w o I 座とを比較すると、S12564 T s p 5 0 9 I 座のほうが遺伝学的にR f -
20 1 座に近いことを意味する。遺伝的距離（組換え価cMが単位）と物理的距離（塩基対数b pが単位）とは必ずしも比例しないが、通常は遺伝的距離が短ければ物理的距離も短いと期待できる。

 そこで、S12564 T s p 5 0 9 I 座を起点に染色体歩行を行うことにより、R f - 1 座を単離することとした（実施例2）。染色体歩行には、インディ
25 カ品種IR24およびジャポニカ品種あそみのりのゲノムDNAを用いてλ DASH I I ベクターにより作成したゲノミックライブラリーを供試した。IR24はR f - 1 保有品種、あそみのりはR f - 1 非保有品種である。染色体歩行を進めた結果、IR24のゲノミッククローンにより約76 kbの染色体領域をカバーするコンティグ（複数のクローンを重複部分で重ね合わせて染色上での順

に整列化したもの)を作成することができ、その全塩基配列(7 6 3 6 3 b p)を決定した。

次いで、得られた塩基配列情報等を利用することにより、新たに12個のマーカーを開発し、既述のRf-1座極近傍組換え個体10個体を用いて、高精度分離分析を行った(実施例3)。その結果、上記の約76kbの染色体領域に含まれる65kbの配列がRf-1遺伝子の機能の有無を決定する配列を包含することが示された。この領域は、8個のゲノミッククローンから構成されるコンティグによりカバーされている。各クロンの長さは、約12~22kbであり少なくとも4.7kbの重複部を持つ。一方、イネの遺伝子の長さについては、短いものから長いものまでであることが知られているが、大部分の遺伝子は数kb以内であると考えられる。そのため、これら8個のゲノミッククローンのうち、少なくともひとつは完全長のRf-1遺伝子を包含すると予測される。

本発明者らはさらに、上記76kbの染色体領域のうち、Rf-1遺伝子領域をさらに絞り込むと共に、稔性回復能の存在を直接的に証明するために、相補性試験を行った。

具体的には、雄性不稔系統であるMSコシヒカリの未熟種子に、上記76kb領域内の10個の部分断片(各10~21kb)を、別々に遺伝子工学的に導入した(図5)。使用された10個の部分断片のうち、8個は先に染色体歩行で得られた8個のゲノミッククローン(図1、実施例3に記載のXSE1、XSE7、XSF4、XSF20、XSG22、XSG16、XSG8及びXSH18)に由来するものである。これらに加えて、さらに2個のクローンXSF18およびXSX1に由来する断片についても相補性試験を行った。XSF18はXSF20と5'末端及び3'末端(各々、配列番号27の塩基20328及び41921)が同一だが、途中の塩基33947-38591を欠いている。これは、最初にクローンXSF18が単離されたが、単離後の増殖の過程で上記欠失を生じたことが判明したため、再度増殖をやり直すことにより、完全型のクローンを単離し、XSF20と命名したことに因る(実施例8)。また、XSX1は、クローンXSG8とXSH18の重複部分がやや小さいため(約7kb)、

制限酵素処理およびライゲーションにより両クローンから、重複部分を十分に含むようなクローンを新たに作成したものである（実施例 13）。

R f - 1 は優性遺伝子であるので、導入した断片が R f - 1 遺伝子を完全に包含している場合には、形質転換植物当代において稔性が回復する。相補性試験において、各断片について形質転換植物の種子稔性調査を行い、λファージクロー
5 X S G 1 6 に由来する 1 5 . 6 k b 断片（配列番号 2 7 の塩基 3 8 5 3 8 - 5 4 1 2 3 を含む）を導入した形質転換体において、種子稔性が回復していることが見出された（実施例 10）。他の断片については、形質転換植物はすべて不稔であった。これらの結果から、上記 1 5 . 6 k b 断片が R f - 1 遺伝子を完全に
10 包含していることが示された。さらに、本発明により、R f - 1 遺伝子を遺伝子工学的に導入する方法が提供され、その有効性が実証された。

本発明者は、λファージクローン X S G 1 6 のどの部分が R f - 1 遺伝子を含むかをさらに特定するために、前述の 1 5 . 6 k b 断片（配列番号 2 7 の塩基 3 8 5 3 8 - 5 4 1 2 3 を含む）よりも短い断片について相補性試験による種子稔
15 性調査を行った。その結果、X S G 1 6 に由来する 1 1 . 4 k b 断片（配列番号 2 7 の塩基 4 2 3 5 7 - 5 3 7 4 3 を含む）を導入した形質転換体において、種子稔性が回復していることが見出された（実施例 10（2））。さらに、より短い 6 . 8 k b 断片（配列番号 2 7 の塩基 4 2 1 3 2 - 4 8 8 8 3 を含む）を導入した形質転換体においても、種子稔性が回復した（実施例 10（3））。これら
20 の結果から、上記 6 . 8 k b 断片が R f - 1 遺伝子を包含していることが示された。

本発明者らは、さらに研究をすすめ、稔性回復機能を有する核酸を特定し、それによってコードされるアミノ酸配列も明らかとなった。具体的には、実施例 1 4 - 1 5 に記載したように、先ず、配列番号 2 7 の 4 3 7 3 3 - 4 4 0 3 8 及び
25 4 8 3 0 6 - 5 0 2 2 6 に相当する DNA 断片を P C R を用いて作成した。これらの 2 種の断片をプローブ（プローブ P 及び Q）として、コシヒカリに R f - 1 を導入した系統より作成した c D N A をライブラリーをスクリーニングした。その結果、6 個のクローンの末端塩基配列が X S G 1 6 の配列と一致し、R f - 1

遺伝子を含むクローンとして単離され、塩基配列が解析された（配列番号 6 9 - 7 4）。

配列番号 6 9 - 7 4 のいずれの配列も、配列番号 7 5 のアミノ酸配列 1 - 7 9 1 を持つタンパク質をコードする。具体的には、各々配列番号 6 9 の塩基 2 1 5 - 2 5 8 7、配列番号 7 0 の塩基 2 1 3 - 2 5 8 5、配列番号 7 1 の塩基 2 1 8 - 2 5 9 0、配列番号 7 2 の塩基 2 0 8 - 2 5 8 0、配列番号 7 3 の塩基 1 4 9 - 2 5 2 1 及び配列番号 7 4 の塩基 2 2 5 - 2 5 9 7 が、いずれも配列番号 7 5 のアミノ酸配列 1 - 7 9 1 をコードする。なお上記塩基配列は、配列番号 2 7 の塩基 4 3 9 0 7 - 4 6 2 7 9 に対応する。

配列番号 7 5 のアミノ酸配列を、トウモロコシの稔性回復遺伝子（R f 2）の推定アミノ酸配列（C u i e t a l. , 1 9 9 6）と比較したところ、N 末端の 7 アミノ酸残基（M e t - A l a - A r g - A r g - A l a - A l a - S e r）が一致した。これら 7 アミノ酸残基はミトコンドリアへの標的化シグナルの一部と考えられている（L i u e t a l. , 2 0 0 1）。これらのことから、今回単離した c D N A は R f - 1 遺伝子のコーディング領域を完全に包含すると考えられる。イネ R f - 1 とトウモロコシ R f 2 とのアミノ酸レベルでの相同性は、前述の領域を除いては見られない。

また、今回単離した c D N A の配列を I R 2 4 のゲノム配列（配列番号 2 7）と比較し、R f - 1 遺伝子のエキソンとイントロンの構造を明らかにした（図 7）。その結果、植物体内において、スプライシング様式およびポリ A 付加位置を異にする種々の転写産物が混在していることが示された。R f - 1 遺伝子のコード領域内には、イントロンは介在しない。

本発明者は、実施例 1 0 （3）の相補性実験で種子稔性を回復した 6 . 8 k b 断片について、さらに相補性実験を行った。具体的には、実施例 1 6 において、前記 6 . 8 k b 断片中の R f - 1 遺伝子のプロモーター領域と予想翻訳領域とを包含する 4 . 2 k b 断片（配列番号 2 7 の塩基 4 2 1 3 2 - 4 6 3 1 8）を用いて、相補性実験を行ったところ、種子稔性が回復した。

さらに、実施例 1 7 において稔性回復機能を有する核酸を含むクローンを新たに 6 個取得した。具体的には、先ず、配列番号 2 7 の塩基 4 5 5 2 2 - 4 5 5 4

5 及び4 5 9 5 5 - 4 5 9 3 2に相当する2種類のプライマーを用いて、I R 2 4のゲノミッククローンX S G 1 6をテンプレートにP C Rを行い、DNA断片を得た。当該DNA断片をプローブRとして、前記プローブPとともにブランクハイブリダイゼーションを行なった。プローブPおよびプローブRのどちらでも
5 陽性を示すブランクから、新たに6個のクローンを得た（# 7 - # 1 2）。その結果を配列番号8 0 - 8 5に示す。

配列番号8 0 - 8 5のいずれの配列も、配列番号7 5のアミノ酸配列1 - 7 9 1を持つタンパク質をコードすると推定される。具体的には、各々配列番号8 0
10 の塩基2 2 9 - 2 6 0 1、配列番号8 1の塩基1 7 5 - 2 5 4 7、配列番号8 2の塩基2 2 7 - 2 5 9 9、配列番号8 3の塩基2 2 0 - 2 5 9 2、配列番号8 4の塩基1 7 4 - 2 5 4 6及び配列番号8 5の塩基9 0 - 2 4 6 2が、いずれも配列番号7 5のアミノ酸配列1 - 7 9 1をコードする。なお上記塩基配列は、配列番号2 7の塩基4 3 9 0 7 - 4 6 2 7 9に対応する。

今回単離したc D N Aの配列をI R 2 4のゲノム配列（特願2 0 0 1 - 2 8 5
15 2 4 7配列番号2 7）と比較することにより、エキソンとイントロンの構造が明らかになった（図8）。今回単離したc D N Aのなかには、予想翻訳領域とは関係のないエキソンを含まず、単一エキソンからなるものも3個存在した（# 1 0 - # 1 2、配列番号8 3 - 8 5）。

I I I. R f - 1 遺伝子座を含む核酸

20 本発明は、稔性回復遺伝子（R f - 1）座を含む核酸を提供する。

本発明の稔性回復遺伝子（R f - 1）座を含む核酸は、配列番号2 7の塩基配列を有する核酸、又は配列番号2 7の塩基配列と少なくとも7 0 %同一の塩基配列であって、稔性回復機能を有する核酸を含む。さらに、実施例1 0に記載したように、配列番号2 7の塩基配列のうち、特に塩基3 8 5 3 8 - 5 4 1 2 3にR
25 f - 1 遺伝子が完全に含まれていると確認された。R f - 1 遺伝子を含む領域はさらに、好ましくは、配列番号2 7の塩基3 8 5 3 8 - 5 4 1 2 3、より好ましくは、塩基4 2 3 5 7 - 5 3 7 4 3、さらに好ましくは、塩基4 2 1 3 2 - 4 8 8 8 3、さらにより好ましくは塩基4 2 1 3 2 - 4 6 3 1 8と特定された。

本発明者らはさらに、研究を進め、R f - 1 遺伝子を含む核酸として以下の領域を特定した。

- a) 配列番号 6 9 の塩基 2 1 5 - 2 5 8 7、
- b) 配列番号 7 0 の塩基 2 1 3 - 2 5 8 5、
- 5 c) 配列番号 7 1 の塩基 2 1 8 - 2 5 9 0、
- d) 配列番号 7 2 の塩基 2 0 8 - 2 5 8 0、
- e) 配列番号 7 3 の塩基 1 4 9 - 2 5 2 1、
- f) 配列番号 7 4 の塩基 2 2 5 - 2 5 9 7、
- h) 配列番号 8 0 の塩基 2 2 9 - 2 6 0 1、
- 10 i) 配列番号 8 1 の塩基 1 7 5 - 2 5 4 7、
- j) 配列番号 8 2 の塩基 2 2 7 - 2 5 9 9、
- k) 配列番号 8 3 の塩基 2 2 0 - 2 5 9 2、
- l) 配列番号 8 4 の塩基 1 7 4 - 2 5 4 6 及び
- m) 配列番号 8 5 の塩基 9 0 - 2 4 6 2。

- 15 上記塩基配列は、g) 配列番号 2 7 の塩基 4 3 9 0 7 - 4 6 2 7 9 に対応し、そして、いずれも配列番号 7 5 のアミノ酸配列 1 - 7 9 1 をコードする。

- 以下、本明細書中、文脈により「配列番号 2 7 の塩基配列」という用語は、配列番号 2 7 全体、あるいは、その一部であって稔性回復機能に関与する部分、特に、塩基 3 8 5 3 8 - 5 4 1 2 3 を示す。より好ましくは、塩基 4 2 3 5 7 - 5
- 20 3 7 4 3、さらに好ましくは、塩基 4 2 1 3 2 - 4 8 8 8 3、さらにより好ましくは塩基 4 2 1 3 2 - 4 6 3 1 8 を示す。そして、特に好ましくは、g) 配列番号 2 7 の塩基 4 3 9 0 7 - 4 6 2 7 9、あるいは、これに対応する、a) 配列番号 6 9 の塩基 2 1 5 - 2 5 8 7、b) 配列番号 7 0 の塩基 2 1 3 - 2 5 8 5、
- 25 c) 配列番号 7 1 の塩基 2 1 8 - 2 5 9 0、d) 配列番号 7 2 の塩基 2 0 8 - 2 5 8 0、e) 配列番号 7 3 の塩基 1 4 9 - 2 5 2 1、f) 配列番号 7 4 の塩基 2 2 5 - 2 5 9 7、h) 配列番号 8 0 の塩基 2 2 9 - 2 6 0 1、i) 配列番号 8 1 の塩基 1 7 5 - 2 5 4 7、j) 配列番号 8 2 の塩基 2 2 7 - 2 5 9 9、k) 配列番号 8 3 の塩基 2 2 0 - 2 5 9 2、l) 配列番号 8 4 の塩基 1 7 4 - 2 5 4 6 又はm) 配列番号 8 5 の塩基 9 0 - 2 4 6 2 のいずれかを示す。

後述する実施例では、稔性回復遺伝子（R f - 1）を含む核酸として、R f - 1 遺伝子を含むインディカ米の I R 2 4 のゲノムライブラリーより核酸が単離され、配列番号 2 7 の塩基配列が決定された。しかしながら、本発明の、稔性回復遺伝子（R f - 1）を含む核酸の由来は、R f - 1 遺伝子を有するインディカ型品種由来のものであれば特に限定されない。R f - 1 遺伝子を有するインディカ型品種は、特に限定されず、例えば、I R 2 4、I R 8、I R 3 6、I R 6 4、Chinsurah、Boro I I が含まれる。R f - 1 遺伝子を有しないジャポニカ型品種としては、例えば、限定されるわけではないが、あそみのり、コシヒカリ、きらら 3 9 7、アキヒカリ、あきたこまち、ササニシキ、キヌヒカリ、日本晴、初星、黄金晴、ヒノヒカリ、ミネアサヒ、あいちのかおり、ハツシモ、アケボノ、フジヒカリ、峰の雪もち、ココノエモチ、ふくひびき、どんとこい、五百万石、ハナエチゼン、トドロキワセ、はえぬき、どまんなか、ヤマヒカリ等が知られている。「インディカ型品種」も「ジャポニカ型品種」も当業者に周知であり、当業者はどのようなイネ品種が本発明の対象となり得るか容易に判断できる。

本発明の核酸は、一本鎖および二本鎖型両方の DNA と共に、その RNA 相補体も含む。DNA には、例えば、ゲノム DNA（その対応する c DNA も含む）、化学的に合成された DNA、PCR により増幅された DNA、およびそれらの組み合わせが含まれる。

本発明の R f - 1 遺伝子を含む核酸は、好ましくは配列番号 2 7 の塩基配列を有する。1 つ以上のコドンが同一のアミノ酸をコードする場合があり、遺伝暗号の縮重と呼ばれている。このため、配列番号 2 7 と完全には一致していない DNA 配列が、配列番号 2 7 と全く同一のアミノ酸配列を有するタンパク質をコードすることがあり得る。こうした変異体 DNA 配列は、サイレント（silent）突然変異（例えば、PCR 増幅中に発生する）から生じてよいし、または天然配列の意図的な突然変異誘発の産物であってもよい。

本発明の R f - 1 遺伝子は、好ましくは配列番号 7 5 に記載のアミノ酸配列をコードする。しかしながら、これに限定されることなく、1 またはそれ以上のアミノ酸配列が欠失、付加または置換しているアミノ酸配列を有していてもよい。

、稔性回復機能を有する限り、全ての相同タンパク質を含むことが意図される。

「アミノ酸変異」は1から複数個、好ましくは、1ないし20個、より好ましくは1ないし10個、最も好ましくは1ないし5個である。Rf-1遺伝子にコードされるアミノ酸配列は、配列番号75に記載のアミノ酸配列と、少なくとも約
5 70%、好ましくは約80%以上、より好ましくは90%以上、さらに好ましくは95%以上、最も好ましくは98%以上の同一性を有する。

アミノ酸の同一性パーセントは、視覚的検査及び数学的計算により決定してもよい。あるいは、2つのタンパク質配列の同一性パーセントは、Needleman, S. B. 及び Wunsch, C. D. (J. Mol. Biol., 48:
10 443-453, 1970) のアルゴリズムに基づき、そしてウイスコンシン大学遺伝学コンピューターグループ (UWGCG) より入手可能なGAPコンピュータープログラムを用い配列情報を比較することにより、決定してもよい。GAPプログラムの好ましいデフォルトパラメーターには: (1) Henikoff, S 及び Henikoff, J. G. (Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89: 10915-10919, 1992) に記載されるような、
15 スコアリング・マトリックス、blosum62; (2) 12のギャップ加重;
(3) 4のギャップ長加重; 及び (4) 末端ギャップに対するペナルティなし、が含まれる。

当業者に用いられる、配列比較の他のプログラムもまた、用いてもよい。同一
20 性のパーセントは、例えば Altschul ら (Nucl. Acids. Res. 25., p. 3389-3402, 1997) に記載されているBLASTプログラムを用いて配列情報と比較し決定することが可能である。当該プログラムは、インターネット上でNational Center for Biotechnology Information (NCBI)、あるいはDNA
25 Data Bank of Japan (DDBJ) のウェブサイトから利用することが可能である。BLASTプログラムによる相同性検索の各種条件 (パラメーター) は同サイトに詳しく記載されており、一部の設定を適宜変更することが可能であるが、検索は通常デフォルト値を用いて行う。

同一の機能を有するタンパク質であっても、由来する品種の相違によって、そのアミノ酸配列に相違が存在しうることは当業者にとって周知の事実である。本発明のRf-1遺伝子は、稔性回復機能を有する限り、配列番号27の塩基配列のこのような相同体、変異体も含みうる。「稔性回復機能を有する」とは、当該DNA断片が導入された場合に、イネ個体又は種子に稔性を付与することを意味する。稔性回復は、Rf-1遺伝子よりタンパク質が発現されることに因ってもよく、あるいはRf-1遺伝子の核酸（DNA又はRNA）自体が稔性の付与に何らかの機能をしていてもよい。

限定されるわけではないが、Rf-1遺伝子の相同体、変異体が稔性回復機能を有するか否かは、例えば、以下のように調べることが可能である。MSコシヒカリ（不稔系統）にコシヒカリの花粉をかけることにより得た未熟種子を供試して、Hiei et al (Plant Journal (1994), 6

(2), p. 272-282)の方法に従い、被検定核酸断片を導入する。得られた形質転換体を通常の条件で栽培すると、被検定核酸断片が稔性回復機能を有する場合にのみ、種子が稔る。

Rf-1遺伝子を有しないジャポニカ型のあそみのりの対応する領域に由来する核酸は、配列番号28に示した塩基配列を有する。配列番号28と配列番号27の対応する部分は、全体として約98%の同一性を有する。よって、本発明の稔性回復遺伝子（Rf-1）座を含む核酸は、配列番号27と少なくとも約7

0%、好ましくは約80%以上、より好ましくは90%以上、さらに好ましくは95%以上、最も好ましくは98%以上の同一性を有する。「配列番号27」

は、特に好ましくは、g)配列番号27の塩基43907-46279、あるいは、これに対応する、a)配列番号69の塩基215-2587、b)配列番号70の塩基213-2585、c)配列番号71の塩基218-2590、d)

配列番号72の塩基208-2580、e)配列番号73の塩基149-2521、f)配列番号74の塩基225-2597、h)配列番号80の塩基229-2601、i)配列番号81の塩基175-2547、j)配列番号82の塩基227-2599、k)配列番号83の塩基220-2592、l)配列番号

84の塩基174-2546又はm)配列番号85の塩基90-2462のいずれかを意図する。

核酸の同一性パーセントは、視覚的検査および数学的計算により決定してもよい。あるいは、2つの核酸配列の同一性パーセントは、Devereuxら、

5 N u c l . A c i d s R e s . , 12 : 387 (1984)に記載され、
そしてウィスコンシン大学遺伝学コンピューターグループ(UWGCG)より入手可能なGAPコンピュータープログラム、バージョン6.0を用い配列情報を比較することにより、決定してもよい。GAPプログラムの好ましいデフォルト
10 パラメーターには：(1)ヌクレオチドに関する単一(unary)比較マトリックス(同一に対し1および非同値に対し0の値を含む)、およびSchwartzおよびDayhoff監修、Atlas of Protein Sequence and Structure, National Biomedical Research Foundation, pp. 353-358 (1979)に記載されるような、GribskovおよびBurgess, N u c l . A c i d s R e s . 14 : 6745 (1986)の加重比較マトリックス；(2)各ギャップに対する3.0のペナルティおよび各ギャップ中の各記号に対しさらに0.10のペナルティ；および(3)末端ギャップに対するペナルティなし、が含まれる。当業者に用いられる、配列比較の他のプログラムもまた、用いてもよい。

20 本発明の核酸はまた、配列番号27の塩基配列に中程度にストリンジェントな条件下でハイブリダイズすることが可能であり、かつ、稔性回復機能を有する核酸、並びに、配列番号27の塩基配列に高度にストリンジェントな条件下でハイブリダイズすることが可能であり、かつ、稔性回復機能を有する核酸を含む。

25 本明細書において使用されるように、中程度にストリンジェントな条件は、例えば、DNAの長さに基づき、一般の技術を有する当業者により、容易に決定することが可能である。基本的な条件は、Sambrookら、Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 第2版, Vol. 1, pp. 1.101-104, Cold Spring Harbor Laboratory Press, (1989)に示されている。

例えば、ニトロセルロースフィルターに関し、5 X S S C、0.5 % S D S、1.0 mM E D T A (p H 8.0) の前洗浄溶液、約 40℃ないし 60℃での、1 X S S Cないし 6 X S S C (または約 42℃での約 50%ホルムアミド中の、例えばスターク溶液 (S t a r k' s s o l u t i o n) などの他の同様のハイブリダイゼーション溶液) のハイブリダイゼーション条件、および約 60℃、0.5 X S S C、0.1 % S D S の洗浄条件の使用が含まれる。また、例えば、ハイブリダイゼーション溶液が約 50%ホルムアミドを含む場合、上記ハイブリダイゼーション温度は約 15℃ないし 20℃低めとなる。非常にストリンジェントな条件もまた、例えば DNA の長さに基づき、当業者により、容易に決定することが可能である。一般に、非常にストリンジェントな条件は、上記中程度にストリンジェントな条件よりも、より高い温度及び／又はより低い塩濃度でのハイブリダイゼーション、及び／又は洗浄条件を含む、例えば、約 60℃ないし 65℃での 0.1 X S S Cないし 0.2 X S S C のハイブリダイゼーション条件、および／又は約 65℃ないし 68℃、0.2 X S S C、0.1 % S D S の洗浄条件を含む。当業者は温度および洗浄溶液塩濃度は、プローブの長さなどの要因にしたがい、必要に応じ調整してもよいことを認識するであろう。

「配列番号 27」は、特に好ましくは、g) 配列番号 27 の塩基 43907-46279、あるいは、これに対応する、a) 配列番号 69 の塩基 215-2587、b) 配列番号 70 の塩基 213-2585、c) 配列番号 71 の塩基 218-2590、d) 配列番号 72 の塩基 208-2580、e) 配列番号 73 の塩基 149-2521、f) 配列番号 74 の塩基 225-2597、h) 配列番号 80 の塩基 229-2601、i) 配列番号 81 の塩基 175-2547、j) 配列番号 82 の塩基 227-2599、k) 配列番号 83 の塩基 220-2592、l) 配列番号 84 の塩基 174-2546 又は m) 配列番号 85 の塩基 90-2462 のいずれかを意図する。

同様に、本発明の DNA には、1つまたは複数の塩基の欠失、挿入または置換のため、配列番号 27 の塩基配列とは異なるが稔性回復機能を有する核酸を含む。稔性回復機能を有する限り、欠失、挿入または置換される塩基の数は特に制限されないが、好ましくは 1 個ないし数千個、より好ましくは 1 個ないし千個、

さらにこのましくは1個ないし500個、さらにより好ましくは1個ないし200個、最も好ましくは1個ないし100個である。

本明細書の記載に基づいてRf-1遺伝子がより特定され、当業者がRf-1遺伝子以外の部分またはRf-1遺伝子内のイントロン部分などの核酸を除いて使用することが可能である。また、既定のアミノ酸（特に配列番号75に記載のアミノ酸配列）を、例えば同様の物理化学的特性を有する残基により置換してもよい。こうした保存的置換の例には、1つの脂肪族残基を互いに、例えばIle、Val、Leu、またはAlaを互いに置換するもの；LysおよびArg、GluおよびAsp、またはGlnおよびAsn間といった、1つの極性残基から別のものへの置換；あるいは芳香族残基の別のものでの置換、例えばPhe、Trp、またはTyrを互いに置換するものが含まれる。他の保存的置換、例えば、同様の疎水性特性を有する領域全体の置換が、周知である。当業者は、周知の遺伝子工学的手法により、Sambrookら、Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 第2版, Cold Spring Harbor Laboratory Press, (1989)等に記載の、例えば部位特異的突然変異誘発法を使用して、所望の欠失、挿入または置換を施すことが可能である。

本発明者らは、Rf-1遺伝子を有するインディカ型のIR24（塩基配列27）と、有しないジャポニカ型のおそみのり（塩基配列28）およびGenBankに登録されている日本晴BACクローン（アクセッション番号AC068923）とを比較した。その結果、Rf-1遺伝子を含むインディカ型のRf-1領域は少なくとも、以下の1塩基多型（SNP）を有することを見出した。

- 1) 配列番号27の塩基1239に相当する塩基がAである；
- 2) 配列番号27の塩基6227に相当する塩基がAである；
- 25 3) 配列番号27の塩基20680に相当する塩基がGである；
- 4) 配列番号27の塩基45461に相当する塩基がAである；
- 5) 配列番号27の塩基49609に相当する塩基がAである；
- 6) 配列番号27の塩基56368に相当する塩基がTである；
- 7) 配列番号27の塩基57629に相当する塩基がCである；及び

8) 配列番号 27 の塩基 6 6 2 6 7 に相当する塩基が G である。

よって、本発明の R f - 1 領域を含む核酸は、好ましくは上記条件 1) - 8) の 1 つないし全てを満たす。

5 なお、後述の実施例 3 において、R f - 1 遺伝子極近傍組換え個体 (R S 1 - R S 2、R C 1 - R C 8) についてその R f - 1 領域の染色体構成を調べた。その結果、配列番号 27 の塩基 1 2 3 9 ないし 6 6 2 6 7 の塩基配列、即ち、最大限に見積もっても P 4 4 9 7 M b o I 座から B 5 6 6 9 1 X b a I 座までの領域 (約 6.5 kb) (図 3) に、R f - 1 遺伝子の機能の有無を決定する配列が含まれることが明らかにされた。ただし、R f - 1 遺伝子の一部の遺伝子型がインディカ型であることが、R f - 1 遺伝子の遺伝子機能発現に重要であり、残りの部分はジャポニカ型でもインディカ型でも遺伝子機能に大きな差異を生じない可能性がある。極端な場合、ジャポニカ・インディカ間でコーディング領域は完全に同一で、プロモーター領域だけに差があり、そして、プロモーター領域及びコーディング領域の一部のみが上記 P 4 4 9 7 M b o I 座から B 5 6 6 9 1
10 X b a I 座までの領域 (約 6.5 kb) に含まれることもあり得る。よって、上記共有インディカ型領域 (配列番号 27 の塩基 1 2 3 9 ないし 6 6 2 6 7) が R f - 1 遺伝子全体を完全に包含するとは、断定できない。しかしながら、以下の理由、

1) 遺伝子の大きさは通常数 kb であり 10 kb を超えることは稀である；
20 2) 本発明で明らかにした I R 2 4 のゲノム塩基配列 (配列番号 27) は、上記共有インディカ型領域を完全に包含する；

3) 配列番号 27 の 5' 末端は、上記共有インディカ型領域の 5' 末端から 1 2 3 8 b p 上流に位置し、別の遺伝子 (S 1 2 5 6 4) の一部である；および

4) 配列番号 27 の 3' 末端は、上記共有インディカ型領域の 3' 末端から
25 1 0 0 9 6 b p 下流に位置する

により、少なくとも配列番号 27 は R f - 1 遺伝子全体を完全に包含すると考えられる。

このように、本発明者らは、まず R f - 1 遺伝子領域を 7.6 kb まで絞り込むことに成功した。よって、本発明の R f - 1 遺伝子領域を含む核酸は、従来技術

の特開 2 0 0 0 - 1 3 9 4 6 5 に記載の R f - 1 遺伝子からの遺伝子距離が約 1 c M (約 3 0 0 k b) ある共優性マーカー座を用いて選抜した場合よりも、R f - 1 遺伝子の近傍に存在する他の遺伝子を含む可能性が格段に低い。さらに、本発明者らの先の特願 2 0 0 0 - 2 4 7 2 0 4 に記載の DNA マーカー座 S 1 2 5 6 4 T s p 5 0 9 I と C 1 3 6 1 M w o I 座 (両遺伝子座の距離は約 0. 3 c M) を用いて選抜した場合よりも他の遺伝子を含む可能性が低い。

さらに、本発明者らは相補性試験を行うことにより、配列番号 2 7 の塩基配列のうち、特に塩基 3 8 5 3 8 - 5 4 1 2 3 に R f - 1 遺伝子が完全に含まれていることを確認した。よって、本発明の一態様において、配列番号 2 7 の塩基配列又は配列番号 2 7 の塩基 3 8 5 3 8 - 5 4 1 2 3 の塩基配列と、少なくとも 7 0 % 同一の塩基配列は、以下の条件 1) 及び 2) の少なくとも一つを満たす：

- 1) 配列番号 2 7 の塩基 4 5 4 6 1 に相当する塩基が A である；及び
- 2) 配列番号 2 7 の塩基 4 9 6 0 9 に相当する塩基が A である。

本発明者らはさらに、R f - 1 遺伝子を含む核酸として以下の領域を特定した。

- a) 配列番号 6 9 の塩基 2 1 5 - 2 5 8 7、
- b) 配列番号 7 0 の塩基 2 1 3 - 2 5 8 5、
- c) 配列番号 7 1 の塩基 2 1 8 - 2 5 9 0、
- d) 配列番号 7 2 の塩基 2 0 8 - 2 5 8 0、
- e) 配列番号 7 3 の塩基 1 4 9 - 2 5 2 1、
- f) 配列番号 7 4 の塩基 2 2 5 - 2 5 9 7、
- h) 配列番号 8 0 の塩基 2 2 9 - 2 6 0 1、
- i) 配列番号 8 1 の塩基 1 7 5 - 2 5 4 7、
- j) 配列番号 8 2 の塩基 2 2 7 - 2 5 9 9、
- k) 配列番号 8 3 の塩基 2 2 0 - 2 5 9 2、
- l) 配列番号 8 4 の塩基 1 7 4 - 2 5 4 6、及び
- m) 配列番号 8 5 の塩基 9 0 - 2 4 6 2。

上記塩基配列は、g) 配列番号 2 7 の塩基 4 3 9 0 7 - 4 6 2 7 9 に対応する。本発明の核酸はさらに、

n) 上記 a) - m) のいずれかの核酸と少なくとも 70% 同一であり、かつ、稔性回復機能を有する核酸；

o) 上記 a) - m) のいずれかの核酸と中程度又は高程度のス 트리 ン ジ ェ ン ト な 条 件 下 で ハ イ ブ リ ダ イ ズ し、かつ、稔性回復機能を有する核酸；及び

5 p) 上記 a) - m) のいずれかの核酸に 1 ないし複数の塩基が欠失、挿入又は置換しており、かつ、稔性回復機能を有する核酸。

を含む。

上記の配列番号 27 の塩基 45461 は、1) 配列番号 69 の塩基 1769；
2) 配列番号 70 の塩基 1767；3) 配列番号 71 の塩基 1772；4) 配列
10 番号 72 の塩基 1762；5) 配列番号 73 の塩基 1703；6) 配列番号 74
の塩基 1779；7) 配列番号 80 の塩基 1783；8) 配列番号 81 の塩基 1
729；9) 配列番号 82 の塩基 1781；10) 配列番号 83 の塩基 177
4；11) 配列番号 84 の塩基 1728；及び 12) 配列番号 85 の塩基 164
4 に相当する。よって、特に好ましくは、本発明の方法に使用する核酸は、好ま
15 しくは、以下の条件 1) - 12) の少なくとも一つを満たす：

- 1) 配列番号 69 の塩基 1769 に相当する塩基が A である；
- 2) 配列番号 70 の塩基 1767 に相当する塩基が A である；
- 3) 配列番号 71 の塩基 1772 に相当する塩基が A である；
- 4) 配列番号 72 の塩基 1762 に相当する塩基が A である；
- 20 5) 配列番号 73 の塩基 1703 に相当する塩基が A である；
- 6) 配列番号 74 の塩基 1779 に相当する塩基が A である；
- 7) 配列番号 80 の塩基 1783 に相当する塩基が A である；
- 8) 配列番号 81 の塩基 1729 に相当する塩基が A である；
- 9) 配列番号 82 の塩基 1781 に相当する塩基が A である；
- 25 10) 配列番号 83 の塩基 1774 に相当する塩基が A である；
- 11) 配列番号 84 の塩基 1728 に相当する塩基が A である；又は
- 12) 配列番号 85 の塩基 1644 に相当する塩基が A である。

I V. イネの稔性の回復方法

本発明は、配列番号 27 の塩基配列を有する核酸、又は配列番号 27 の塩基配列と少なくとも 70 % 同一の塩基配列であって、稔性回復機能を有する核酸をイネに導入することにより、イネの稔性を回復する方法を提供する。本発明の方法はまた、配列番号 27 の一部、特に、配列番号 27 の塩基 3 8 5 3 8 - 5 4 1 2 3、好ましくは、塩基 4 2 3 5 7 - 5 3 7 4 3、より好ましくは、塩基 4 2 1 3 2 - 4 8 8 8 3 の塩基配列を有する核酸、又は配列番号 27 の塩基 3 8 5 3 8 - 5 4 1 2 3、好ましくは、塩基 4 2 3 5 7 - 5 3 7 4 3、より好ましくは、塩基 4 2 1 3 2 - 4 8 8 8 3、さらにより好ましくは塩基 4 2 1 3 2 - 4 6 3 1 8 の塩基配列と少なくとも 70 % 同一の塩基配列であって、稔性回復機能を有する核酸をイネに導入してもよい。

本発明の方法は特に好ましくは、配列番号 75 のアミノ酸配列、又は配列番号 75 のアミノ酸配列と少なくとも 70 % 同一のアミノ酸配列をコードする核酸であって、稔性回復機能を有する核酸をイネに導入する。最も好ましくは、配列番号 75 のアミノ酸配列、又は配列番号 75 のアミノ酸配列と少なくとも 70 % 同一のアミノ酸配列をコードする核酸は、以下の a) - p) の核酸から選択される：

- a) 配列番号 69 の塩基 2 1 5 - 2 5 8 7 を含む核酸；
- b) 配列番号 70 の塩基 2 1 3 - 2 5 8 5 を含む核酸；
- c) 配列番号 71 の塩基 2 1 8 - 2 5 9 0 を含む核酸；
- d) 配列番号 72 の塩基 2 0 8 - 2 5 8 0 を含む核酸；
- e) 配列番号 73 の塩基 1 4 9 - 2 5 2 1 を含む核酸；
- f) 配列番号 74 の塩基 2 2 5 - 2 5 9 7 を含む核酸；
- g) 配列番号 27 の塩基 4 3 9 0 7 - 4 6 2 7 9 を含む核酸；
- h) 配列番号 80 の塩基 2 2 9 - 2 6 0 1 を含む核酸；
- i) 配列番号 81 の塩基 1 7 5 - 2 5 4 7 を含む核酸；
- j) 配列番号 82 の塩基 2 2 7 - 2 5 9 9 を含む核酸；
- k) 配列番号 83 の塩基 2 2 0 - 2 5 9 2 を含む核酸；
- l) 配列番号 84 の塩基 1 7 4 - 2 5 4 6 を含む核酸；
- m) 配列番号 85 の塩基 9 0 - 2 4 6 2 を含む核酸；

n) 上記 a) - m) のいずれかの核酸と少なくとも 70% 同一であり、かつ、稔性回復機能を有する核酸；

o) 上記 a) - m) のいずれかの核酸と中程度又は高程度のストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、稔性回復機能を有する核酸；及び

5 p) 上記 a) - m) のいずれかの核酸に 1 ないし複数の塩基が欠失、挿入又は置換しており、かつ、稔性回復機能を有する核酸。

本発明において、イネに導入されうる稔性回復遺伝子 (Rf-1) 座を含む核酸は、先の「III. Rf-1 遺伝子座を含む核酸」において記載の核酸を使用しうる。核酸のイネへの導入方法は特に限定されず、公知の方法を使用することが可能である。本発明の核酸は公知の遺伝子工学的な方法によって導入しても、
10 あるいは交配によっても導入してもよい。隣接する他の遺伝子の導入を防げる、育種年限を短縮できる、という観点より遺伝子工学的な方法の使用が好ましい。

遺伝子工学的手法による形質導入のためにはいかなる適切な発現系を使用してもよい。組換え発現ベクターは、適切な転写または翻訳制御ヌクレオチド配列、
15 例えば、哺乳動物、微生物、ウイルス、または昆虫遺伝子由来のものなどに、機能可能であるように連結されている、本発明のイネに導入されうる稔性回復遺伝子 (Rf-1) を含む核酸を含む。

制御配列の例には、転写プロモーター、オペレーター、またはエンハンサー、mRNA リボソーム結合部位、並びに転写および翻訳開始および終結を調節する
20 適切な配列が含まれる。ヌクレオチド配列は、制御配列が該 DNA 配列に機能的に関連しているとき、機能可能であるように連結されている。したがって、プロモーターヌクレオチド配列は、該プロモーターヌクレオチド配列が DNA 配列の転写を調節するならば、DNA 配列に、機能可能であるように連結されている。
イネにおいて複製する能力を与える複製起点、および形質転換体を同定する選択
25 遺伝子が、一般的に発現ベクターに取り込まれている。選択マーカーとしては、通常使用されるものを常法により用いることができる。例えばテトラサイクリン、アンピシリン、またはカナマイシンもしくはネオマイシン、ハイグロマイシンまたはスペクチノマイシン等の抗生物質耐性遺伝子などが例示される。

さらに、必要に応じて適切なシグナルペプチド（天然または異種性）をコードする配列を、発現ベクターに取り込んでもよい。シグナルペプチド（分泌リーダー）のDNA配列を、インフレームで本発明の核酸配列に融合させ、DNAがまず転写され、そしてmRNAがシグナルペプチドを含む融合タンパク質に翻訳されるようにしてもよい

本発明によればまた、本発明の遺伝子を含む組換えベクターが提供される。プラスミドなどのベクターに本発明の遺伝子のDNA断片を組み込む方法としては、例えば、Sambrook, J. ら, Molecular Cloning, A Laboratory Manual (2nd edition), Cold Spring Harbor Laboratory, 1. 53 (1989) に記載の方法などが挙げられる。簡便には、市販のライゲーションキット（例えば、宝酒造製等）を用いることもできる。このようにして得られる組換えベクター（例えば、組換えプラスミド）は、宿主細胞であるイネに導入される。

ベクターは、簡便には当業界において入手可能な組換え用ベクター（例えば、プラスミドDNAなど）に所望の遺伝子を常法により連結することによって調製することができる。本願発明の核酸断片を用いてイネに稔性を付与する場合には、特に、植物形質転換用ベクターが有用である。植物用ベクターとしては、植物細胞中で当該遺伝子を発現し、当該タンパク質を生産する能力を有するものであれば特に限定されないが、例えば、pBI221、pBI121（以上Clontech社製）、及びこれらから派生したベクターが挙げられる。また、特に単子葉植物たるイネの形質転換には、pIG121Hm、pTOK233（以上Hiei ら, Plant J., 6, 271-282 (1994)）、pSB424（Komari ら, Plant J., 10, 165-174 (1996)）などが例示される。

形質転換植物は、上述のベクターの β -グルクロニダーゼ（GUS）遺伝子の部位に本願発明の核酸断片を入れ替えて植物形質転換用ベクターを構築し、これを植物に導入することで調整することができる。植物形質転換用ベクターは、少なくともプロモーター、翻訳開始コドン、所望の遺伝子（本願発明の核酸配列ま

たはその一部)、翻訳終始コドンおよびターミネーターを含んでいることが好ましい。また、シグナルペプチドをコードするDNA、エンハンサー配列、所望の遺伝子の5'側および3'側の非翻訳領域、選抜マーカー領域などを適宜含んでもよい。プロモーター、ターミネーターは植物細胞で機能するものであれば特に限定されないが、構成的発現をするプロモーターとしては、上記ベクターに
5 予め組み込まれている35Sプロモーターの他に、アクチン、ユビキチン遺伝子のプロモーターなどが例示される。

プラスミドを宿主細胞に導入する方法としては、一般に、Sambrook, J. ら, Molecular Cloning, A Laboratory
10 Manual (2nd edition), Cold Spring Harbor Laboratory, 1.74 (1989) に記載のリン酸カルシウム法または塩化カルシウム/塩化ルビジウム法、エレクトロポレーション法、エレクトロインジェクション法、PEGなどの化学的な処理による方法、遺伝子銃などを用いる方法などが挙げられる。植物細胞の場合は、例えばリーフディスク法
15 [Science, 227, 129 (1985)]、エレクトロポレーション法 [Nature, 319, 791 (1986)] によって形質転換することができる。

特に植物への遺伝子導入法としては、アグロバクテリウムを用いる方法 (Horsch et al., Science, 227, 129 (1985)、
20 Hiei et al., Plant J., 6, 271-282 (1994))、エレクトロポレーション法 (Fromm et al., Nature, 319, 791 (1986))、PEG法 (Paszkowski et al., EMBO J., 3, 2717 (1984))、マイクロインジェクション法 (Crossway et al., Mol. Gen. Gene
25 t., 202, 179 (1986))、微小物衝突法 (McCabe et al., Bio/Technology, 6, 923 (1988)) などが挙げられる。所望の植物に核酸を導入する方法であれば特に限定されない。

一方、交配による導入の場合には、例えば、以下のようにして行うことが可能である。まず、Rf-1 供与親とジャポニカ品種とを交雑して得られたF₁に、

ジャポニカ品種を戻し交雑する。得られた個体のなかから、S 1 2 5 6 4 T
 s p 5 0 9 I 座がジャポニカ型ホモ、P 4 4 9 7 M b o I 座及びB 5 3 6 2 7
 B s t Z 1 7 I 座がヘテロの個体を選別し、さらなる戻し交雑に供試する。得ら
 れた個体のなかから、P 4 4 9 7 M b o I 座及びB 5 6 6 9 1 X b a I 座が
 5 ヘテロ、B 5 3 6 2 7 B s t Z 1 7 I 座がジャポニカ型ホモの個体を選抜し、
 さらなる戻し交雑に供試する。以後は、戻し交雑各世代で、P 4 4 9 7 M b o
 I 座及びB 5 6 6 9 1 X b a I 座がヘテロの個体を選抜し、次の戻し交雑に供
 試する、という工程を10回程度繰り返す。最後に、P 4 4 9 7 M b o I 座及
 びB 5 6 6 9 1 X b a I 座がヘテロの個体を自殖させ、得られた個体から両座
 10 がインディカ型ホモの個体を選抜することにより、P 4 4 9 7 M b o I 座から
 B 5 6 6 9 1 X b a I 座までの限定された染色体領域をR f - 1 供与親から引
 き継ぐ回復系統を得ることができる。

本発明において、稔性回復遺伝子 (R f - 1) を含む核酸が単離されたこと
 により、R f - 1 遺伝子を遺伝子工学の技術を用いてイネ品種に導入し、回復系統
 15 を育成することが可能となった。本発明ではR f - 1 領域を先ず76 kb以下に
 まで絞り込むことに成功した。よって本発明のR f - 1 遺伝子座を含む核酸は、
 従来技術と比較して、R f - 1 遺伝子の近傍に存在する他の遺伝子を含む可能性
 が格段に低い。さらに、本発明はR f - 1 遺伝子を含む領域の全塩基配列を明ら
 かにした。当業者は、本明細書の記載に基づきR f - 1 遺伝子自体の解析するこ
 20 とが進めることができる。よって、隣接する遺伝子を全く含まずにR f - 1 遺伝
 子のみを導入することも可能となった。これは、隣接遺伝子が劣悪形質をもたら
 す遺伝子である場合に特に重要である。さらに、交雑の場合より早く、1～2年
 の短期間での回復系統を育成も可能となった。

そして、本明細書中の実施例4-13及び17に記載の相補性試験では実際
 25 に、図5に記載の10個のクローン由来の断片を用い、アグロバクテリウムを用
 いる方法によりMSコシヒカリ (BT細胞質を持ち、核遺伝子はコシヒカリとほ
 ぼ同一) を形質転換した。その結果、配列番号27の塩基38538-5412
 3、好ましくは、塩基42357-53743、より好ましくは、塩基4213

2-48883、さらにより好ましくは塩基42132-46318の塩基配列を含む核酸によって、稔性回復系統が育成されることが証明された。

限定されるわけではないが、アグロバクテリウムを用いるイネの回復系統の作成方法は、例えば、Hiei et al., Plant J., 6, p.

5 271-282 (1994)、Komari et al., Plant J., 10, p. 165-174 (1996)、Ditta et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77: p. 7347-7351 (1980) 等に記載されている。

10 先ず、所期の挿入したい核酸断片を含むプラスミドベクターを作成する。プラスミドベクターは、例えば、前記Komari et al., Plant J., 10, p. 165-174 (1996) らにプラスミドマップが記載されている、pSB11、pSB22等が使用可能である。あるいは、当業者は例えば前記pSB11、pSB22等のプラスミドベクターを基に、自ら適当なベクターを構築する事も可能である。本明細書後述する実施例では、pSB11を
15 基に、ハイグロマイシン耐性遺伝子カセットを持つ中間ベクターpSB200を作成して使用した。具体的には、先ず、ユビキチンプロモーターとユビキチンイントロン (Pubi-ubi I) に、ノパリン合成酵素のターミネーター (Tnos) を接続した。これより得られたPubi-ubi I-Tnos接続体のubi I-Tnos間に、ハイグロマイシン耐性遺伝子 (HYG (R)) を挿入す
20 ることにより、Pubi-ubi I-HYG (R)-Tnosからなる接続体を得た。この接続体を、pSB11 (Komariら、上述) のHindIII/EcoRI断片に接続することにより、pKY205を得た。このpKY205のPubi上流に存在するHindIII部位にNotI、NspV、EcoRV、KpnI、SacI、EcoRIの制限酵素部位を追加するためのリンカー
25 配列を挿入することにより、ハイグロマイシン耐性遺伝子カセットを有するpSB200を得た。

次いで、挿入核酸を含む組換えベクターを用いて大腸菌 (例えばDH5 α 、JM109、MV1184等、いずれも例えばTAKARA社より購入可能) を形質転換する。

さらに、形質転換された大腸菌を用いて、アグロバクテリウム菌株を好ましくはヘルパー大腸菌株とともに、例えば、Ditt et al (1980)の方法に従い、三菌系交雑 (triparential mating) を行う。限定されるわけではないが、アグロバクテリウムは例えば、*Agrobacterium tumefaciens* 菌株 LBA4404/pSB1、LBA4404/pNB1、LBA4404/pSB3 等を使用することが可能である。いずれも前述の Komari et al., Plant J., 10, p. 165-174 (1996) にプラスミドマップが記載されており、当業者は例えば自らベクター構築を行うことにより使用可能である。限定されるわけではないが、ヘルパー大腸菌は、例えば HB101/pRK2013 (クローンテック社より入手可能) 等が使用可能である。また、より一般的ではないが pRK2073 を保有する大腸菌もヘルパー大腸菌として使用可能との報告がある (Lemas et al., Plasmid 1992, 27, p. 161-163)。

次いで、所期の交配が生じたアグロバクテリウムを用いて、例えば、Hie et al (1994) の方法に準拠し、雄性不稔イネの形質転換を行う。形質転換に必要なイネ未熟種子は、例えば、雄性不稔イネにジャポニカ品種の花粉をかけることにより作成できる。

形質転換植物の稔性回復は、例えば出穂約 1 か月後に、種子稔性を立毛調査することによって調べることが可能である。立毛調査とは、圃場などで栽培されている状態で観察する方法である。あるいは、実験室で穂の稔実率を調べる稔実率調査を行ってもよい。

V. Rf-1 遺伝子の存在の有無の識別方法

本発明において Rf-1 遺伝子の機能の有無を決定する配列が、イネ第 10 染色体上の約 65 kb の多型検出用マーカー座 P4497 Mb o I と B56691 Xba I の間に存在することが明らかにされた。さらに、相補性試験により、配列番号 27 の塩基配列のうち、特に塩基 38538-54123 に Rf-1 遺伝子が完全に含まれていることが確認された。

また、R f - 1 遺伝子を有するインディカ型品種（I R 2 4）（配列番号 2 7）と当該遺伝子を有しないジャポニカ型品種（あそみのり（配列番号 2 8）および日本晴 B A C クローン A C 0 6 8 9 2 3）の塩基配列を比較し、両者に複数の多型（p o l y m o r p h i s m）が存在することが明らかになった。その結果、R f - 1 遺伝子近傍領域における塩基配列の多型を利用することにより、被
5 検定イネ個体又は種子が R f - 1 遺伝子を有するか否かを、簡便、迅速かつ正確に識別することが可能となった。

よって、本発明はまた、R f - 1 遺伝子の機能の有無を決定する配列がイネ第 1 0 染色体上の多型検出用マーカー座 P 4 4 9 7 M b o I と B 5 6 6 9 1 X
10 b a I の間に存在することを利用して、被検定イネ個体又は種子が R f - 1 遺伝子を有するか否かを識別する方法を提供する。

多型の検出は公知の任意の方法を使用して行うことが可能である。例えば、制限酵素断片長の多型（r e s t r i c t i o n f r a g m e n t l e n g t h
15 p o l y m o r p h i s m ; R F L P）を調べる方法、塩基配列の決定により直接的に決定する方法、ゲノム DNA を 8 塩基認識制限酵素で切断後、末端を放射能標識し、さらに、6 塩基および 4 塩基認識制限酵素で切断し、2 次元電気泳動で展開する方法（R L G S 法、R e s t r i c t i o n L a n d m a r k
20 G e n o m e S c a n n i n g）等が知られている。さらに、R F L P をポリメラーゼ連鎖反応（P C R）によって増幅・検出する A F L P（a m p l i f i e d f r a g m e n t l e n g t h p o l y m o r p h i s m ; P.
V o s, ら、N u c l e i c A c i d s R e s. V o l. 2 3, p. 4 4 0 7 - 4 4 1 4（1 9 9 5））分析も開発されている。

例えば、従来より以下に例示するような R F L P を P C R 増幅を用いて検出する方法（R F L P マーカーの P C R マーカー化）、マイクロサテライトの多型を
25 P C R 増幅を用いて検出する方法（マイクロサテライトマーカー）が採用されてきた。

R F L P マーカーの P C R マーカー化

A. R F L P プローブ対応ゲノム領域の多型を利用して P C R マーカー化する方法（D. E. H a r r y, B. T e m e s g e n, D. B. N e a l e ; C

odominant PCR-based markers for Pinus taeda developed from mapped cDNA clones, Theor. Appl. Genet. (1998) 97: p. 327-336)。これは、RFLPマーカープローブ配列（「RFLP」は、あるDNA断片をプローブに用いてサザン解析を行った場合に観察される多型である。プローブに用いたDNA断片の塩基配列を「RFLPマーカープローブ配列」と呼ぶ。）に対して設計したプライマーを用いてゲノムPCRを行った後、次の二方法のいずれかによりPCRマーカーク化できる。第1は、産物を一連の制限酵素で処理し、断片長多型を生じる制限酵素を探索する手法であり、第2は、産物の塩基配列を品種間比較して多型を探索し、その多型を利用してPCRマーカーク化する方法である。

B. RFLP原因部位を同定してPCRマーカーク化する方法。これは、RFLPマーカープローブ配列内あるいはその周辺（通常数kb以内）に存在するRFLP原因部位（比較する2品種の一方のみが持つ制限酵素認識部位）を同定することにより、PCRマーカーク化する方法である。

マイクロサテライトマーカーク

マイクロサテライトとは、(CA)_nのような2ないし4塩基程度の繰り返し配列であり、ゲノム中に多数存在している。繰り返し数に品種間多型がある場合、隣接領域に設計したプライマーを用いてPCRを行うと、PCR産物長に多型が観察され、DNA多型を検出することが可能となる。マイクロサテライトを利用した多型検出マーカークは、マイクロサテライトマーカークと呼ばれている

(O. Parnaud, X. Chen, S. R. McCouch, , Mol. Gen. Genet. (1996) 252: p. 597-607)。

本発明において多型の検出方法は特に限定されない。効率、簡便性の観点より、PCRとRFLPを組み合わせ、比較する品種系統間において、PCRにより増幅したDNA断片配列中の制限酵素認識部位に多型が存在する場合に、その制限酵素による切断パターンからいずれの型であるかを決定するPCR-RFLP法が好ましい。PCR-RFLP法は、CAPS (cleaved amplified polymorphic sequence) 法とも呼ばれる。

多型が見出される部位に適切な制限酵素認識部位が存在しない場合、PCRの際に制限酵素部位を導入するCAPSの修飾法、dCAPS (derived cleaved amplified polymorphic sequence) も使用可能である (Michaels, S. D. and Amasino, R. M. (1998), The Plant Journal 14 (3) 381-385; A. Koniecznyら, (1993), Plant J. 4 (2) p. 403-410; Neff, M. M., Neff, J. D., Chory, J. and Pepper, A. E. (1998), The Plant Journal 14 (3) 387-392)。以下、
 10 より詳細に説明する。

CAPS法、dCAPS法

限定されるわけではないが、本発明の識別方法では

i) Rf-1 遺伝子座において、インディカ品種とジャポニカ品種の塩基配列において多型が見出される部位およびその隣接領域の塩基配列に基づいて、当該
 15 塩基配列を増幅するようにプライマー対を作成し；

ii) 被検定イネ個体又は種子のゲノムDNAを鋳型として核酸増幅反応を行い；そして

iii) 前記核酸増幅産物に見出される多型に基づいて、被検定イネ個体又は種子がRf-1 遺伝子を有するか否かを判断する。

20 工程 i) におけるプライマー対の作成は、好ましくは

a) 前記核酸増幅産物の多型中に欠失領域を有する型が存在する場合、当該欠失領域の両側に欠失領域を挟むように核酸増幅用プライマー対を作成し、多型検出用マーカーとする；

25 b) 前記核酸増幅産物の多型中に制限酵素認識に差異を生じる塩基置換が存在する場合、当該塩基置換部位の両側に置換部位を挟むように核酸増幅用プライマー対を作成し、多型検出用マーカーとする；または

c) 前記核酸増幅産物の多型中に制限酵素認識に差異を生じない塩基置換が存在する場合、当該塩基置換部位を含み、そして、当該塩基置換部位を含む領域

を核酸増幅産物では制限酵素認識に差異を生じるような塩基配列に変更するようなミスマッチ導入用プライマー対を作成し、多型検出用マーカーとする；
のいずれかの手段を含む。

- 5 限定されるわけではないが、本発明において、R f - 1 遺伝子の存在を識別するために利用可能な適当な多型部位は、例えば、R f - 1 遺伝子を有するインディカ型品種（I R 2 4）（配列番号 2 7）と当該遺伝子を有しないジャポニカ型品種（あそみのり（配列番号 2 8）および B A C クローン A C 0 6 8 9 2 3）の塩基配列を比較し、以下のように多型検出用マーカーの作成が可能となるように、適宜選択することができる。
- 10 例えば、見出された多型が制限酵素認識部位に差異を生じる場合、当該多型部位の両側に多型部位を挟むように核酸増幅プライマーを作成し、多型検出用に用いる。プライマーを設計する際は、不要な産物を避けるために、反復性の高い配列に対して設計しない方が好ましい。見出された多型が制限酵素認識に差異を生じない場合、記述の d C A P S 法を適用することにより、マーカーを作成するこ
- 15 とができる。d C A P S マーカーのプライマーを設計する際は、反復配列に対して設計しない方が好ましいことに加え、多型を識別しやすするため産物長が、好ましくは 5 0 - 3 0 0 塩基、より好ましくは 1 0 0 塩基程度となるようにするとよい。

- 見出された多型がマイクロサテライトに関するものであれば、当該マイクロサ
- 20 テライトを挟むように核酸増幅用プライマーを作成し、多型検出用に用いる。この場合も、反復配列に対してプライマーを設計しない方が好ましい。

1) 核酸増幅

- 本発明では、好ましくは、解明された被検定イネ個体又は種子の R f - 1 遺伝
- 25 ライマー対を作成する。当該プライマーを使用して、被検定イネ個体又は種子のゲノム DNA を鋳型に核酸増幅反応を行う。核酸増幅反応は好ましくは、複製連鎖反応（P C R）（サイキら、1 9 8 5, S c i e n c e 2 3 0, p. 1 3 5 0 - 1 3 5 4）である。

核酸増幅のためのプライマー対は、多型部位およびその隣接領域の塩基配列に基づき公知の方法により作成することが可能である。具体的には、限定されるわけではないが、例えば、多型部位およびその隣接領域の塩基配列に基づき、以下の条件：

- 5 1) 各プライマーの長さが15－30塩基であること；
 - 2) 各プライマーの塩基配列中のG＋Cの割合が30－70％であること；
 - 3) 各プライマーの塩基配列中のA、T、GおよびCの分布が部分的に大きく偏らないこと；
 - 4) プライマー対によって増幅される核酸増幅産物の長さが50－3000塩基、好ましくは50－300塩基であること；そして
 - 10 5) 各プライマー自身の塩基配列中、又はプライマー同士の塩基配列間に相補的な配列部分が存在しないこと
- を満たすように、多型部位およびその隣接領域の塩基配列と同じ塩基配列若しくは上記領域に相補的な塩基配列を有する一本鎖DNAを製造し、または、必要であれば多型部位およびその隣接領域の塩基配列に対する結合特異性を失わないように修飾した上記一本鎖DNAを製造する
- 15 ことを含む方法により、プライマー対を作成できる。

- 本発明において増幅される、多型部位の「隣接領域」とは、多型とその隣接領域の双方を含む領域が、好ましくは、PCR法等の核酸増幅が可能な距離の範囲
- 20 内にあることを意味する。限定されるわけではないが、好ましくは増幅される隣接領域が約50塩基ないし約3000塩基、より好ましくは約50塩基ないし約2000塩基の範囲内にある。多型を識別しやすするためは、産物長が好ましくは50－300塩基、より好ましくは100塩基程度となるようにするとよい。限定されるわけではないが、隣接領域は、多型部位の5'側または3'側に
- 25 好ましくは約0塩基ないし約3000塩基、より好ましくは約0塩基ないし約2000塩基、より好ましくは約0塩基ないし約1000塩基の範囲内にある。

核酸増幅反応の手順及び条件は特に限定されず、当業者に周知である。当業者は、多型部位およびその隣接領域の塩基配列、プライマー対の塩基配列および長さ等の種々の要因に応じて適宜、条件を採用することが可能である。一般には、

プライマー対の長さが長い程、G + Cの割合が高いほど、A、T、GおよびCの分布の偏りが小さい程よりストリンジェントな条件（より高温でのアニーリング反応および核酸伸長反応、より少ないサイクル数）で核酸増幅反応を行うことが可能である。よりストリンジェントな条件の採用により、特異性の高い増幅反応が可能となる。

増幅反応は、限定されるわけではないが、例えば、鋳型として使用するゲノムDNA 50 ng、dNTP各200 μ M、ExTaqTM（TAKARA）5 Uを使用し、例えば、94℃にて2分を1サイクル行った後、94℃にて1分、58℃にて1分、72℃にて2分を1サイクルとして30サイクル行い、最後に72℃にて2分を1サイクル行うことにより行うことができる。あるいは、94℃にて2分を1サイクル行った後、94℃にて1分、58℃にて1分、72℃にて1分を1サイクルとして30サイクル行い、最後に72℃にて2分を1サイクル行うことにより行うこともできる。あるいは、別の態様においては、94℃にて2分を1サイクル行った後、94℃にて30秒、58℃にて30秒、72℃にて30秒を1サイクルとして35サイクル行い、最後に72℃にて2分を1サイクル行うことにより行うこともできる。

PCRの鋳型として使用する被検定イネゲノムのDNAは、Edwardsら（Nucleic Acids Res. 8（6）：1349，1991）の方法で、個体又は種子より簡易に抽出することができる。より好ましくは、標準的な方法により精製したDNAを用いるのがよい。CTAB法（Murray M. G.， et al.， Nucleic Acids Res. 8（19）：4321-5，1980）は、特に好ましい抽出法である。PCRを行うための鋳型として使用するDNAの濃度は、終濃度で0.5 ng/ μ l が好ましい。

2) 多型検出用マーカーの作成

上記プライマー対を用いた核酸増幅反応により、増幅産物に多型が検出されるか否かを調査し、見出された多型に基づいて多型検出用マーカーを作成する。限定されるわけではないが、増幅産物に検出されうる多型としては以下のようなものがある。

a) 前記核酸増幅産物の多型中に欠失領域を有する型が存在する場合

このような場合、欠失領域の両側に欠失領域を挟むように核酸増幅用プライマー対を作成し、多型検出用マーカーとする。欠失領域の大きさが十分な場合、例えば増幅産物をアガロースゲル電気泳動又はアクリルアミドゲル電気泳動等することにより、泳動度の差により多型の検出が可能である。例えば、アガロースゲル電気泳動の場合には塩基対数に約5%以上の差がある場合、シーケンス用アクリルアミドゲル電気泳動の場合には約1塩基以上長さに差がある場合検出可能である。または、欠失領域外の塩基配列に相補的な配列を有するオリゴヌクレオチド若しくはDNA断片を解析用プローブとして、核酸増幅産物に対してハイブリダイゼーションを行うことにより、多型を検出することができる。あるいは、必要に応じ、増幅産物の塩基配列を決定して多型を確認してもよい。核酸の電気泳動、ハイブリダイゼーション、塩基配列の決定等は公知の方法を使用でき、当業者は適宜採用可能である。このような場合は、増幅産物の長さの相違が直接多型を生じるので、これを利用した多型検出用マーカーをALP (amplicon length polymorphism) マーカーと言う。

b) 前記核酸増幅産物の多型中に制限酵素認識に差異を生じる塩基置換が存在する場合

このような場合、当該塩基置換部位の両側に置換部位を挟むように核酸増幅用プライマー対を作成し、多型検出用マーカーとする。このような場合、核酸増幅産物の多型中に制限酵素認識に差異を生じる塩基置換が存在する、即ち、核酸増幅産物中に、特定の1または複数の制限酵素で切断されるものとされないものが存在する。よって、得られた増幅産物を制限酵素処理し、例えばアガロースゲル等で電気泳動し、泳動度の差により多型を検出することが可能である。必要に応じ、増幅産物の塩基配列を決定して多型を確認してもよい。

このような場合、PCR等による増幅産物の制限酵素断片の長さの相違が多型を生じるので、これを利用した多型検出用マーカーをCAPSマーカーまたはPCR-RFLPマーカーという (A. Koniecznyら, 上述)。

後述する実施例1のプライマー対P4497 MboI、P23945 MboI、P41030 TaqI、P45177 BstUI、B59066 B

s a J I 及び B 5 6 6 9 1 X b a I がこのような場合に相当する。なお、前記 a) の核酸増幅産物の長さで多型を検出可能な場合であっても制限酵素処理を併用することにより、多型がより検出しやすくなる場合がある。

c) 前記核酸増幅産物の多型中に制限酵素認識に差異を生じない塩基置換が

5 存在する場合

このような場合、当該塩基置換部位を含み、そして、当該塩基置換部位を含む領域を核酸増幅産物では制限酵素認識に差異を生じるような塩基配列に変更するようなミスマッチ導入プライマー対を作成し、多型検出用マーカーとする。

具体的には、天然の R f - 1 遺伝子近傍領域の塩基配列に基づくプライマー対
10 では核酸増幅産物に多型を生じるが制限酵素認識に差異を生じないため、片方の
または双方のプライマーにミスマッチを導入し、当該塩基置換部位（多型）を含
む領域を核酸増幅産物では制限酵素認識に差異を生じるような塩基配列に変更す
る。例えば、P C R 法を用いた部位特異的変異の導入による特定ヌクレオチドの
置換、欠失又は付加の一般的な技術は、例えば M i k a e l i a n ら、N u c
15 l . A c i d s . R e s . 2 0 : 3 7 6 . 1 9 9 2 に記載された方法を用いるこ
とができる。上記ミスマッチ導入プライマーを多型検出用マーカーとして用いた
増幅産物では、ミスマッチ導入部位において制限酵素認識に差異を有するため、
核酸増幅産物中に、特定の 1 または複数の制限酵素で切断されるものとされない
ものが存在する。よって、上述の b) の場合と同様に得られた増幅産物を制限酵
20 素処理し、例えばアガロースゲル等で電気泳動し、泳動度の差により多型を検出
することが可能である。

ミスマッチの導入は、プライマーの標的植物ゲノムへの結合性を失わず、ま
た、多型を生じている塩基置換を変化させるものであってならない。多型を生
じている塩基置換を利用してその近傍にミスマッチを導入して、塩基置換とミス
25 マッチの双方の組み合わせにより制限酵素認識に差異が生じるようにする。この
ようなミスマッチの導入法は当業者に公知であり、例えば、M i c h a e l s ,
S . D . and A m a s i n o , R . M . (1 9 9 8) 、 N e f f , M .
M . , N e f f , J . D . , C h o r y , J . and P e p p e r ,
A . E . (1 9 9 8) 等に詳述されている。

このような場合のマーカ―は、前述のb)のCAPSマーカ―の改良であり、dCAPS (d e r i v e d C A P S) マーカ―という。後述する実施例3のP9493 B s l Iがこのような場合に相当する。

なお、上記のb)またはc)の場合において、品種間の多型とは無関係の余分な制限酵素部位が多く存在すると、多型に基づく制限酵素部位認識の相違が識別しにくくなる場合がある。このような場合、必要に応じプライマーにミスマッチを導入し、不必要な制限酵素部位をつぶしてもよい。例えば、実施例3のB60304 M s p Iでは、Rプライマーにミスマッチを導入して多型と無関係なM s p I部位をつぶしている。

限定されるわけではないが、CAPS法又はdCAPS法は、他のRFLP法等と比較していくつかの利点を有する。具体的には、例えば、RFLP法と比較して、少量のサンプルで分析できる。分析に要する時間および労力を大きく軽減できる、といった利点がある。マイクロサテライトマーカ―と比較しても、作成したPCRマーカ―の多型検出がアクリルアミド電気泳動よりも容易なアガロースゲル電気泳動で行えるという利点がある。

本発明の識別方法の好ましい実施態様

以下、例示のために本発明の被検定イネがRf-1遺伝子を有するか否かを識別する方法の好ましい態様を記載する。本明細書の実施例においてRf-1遺伝子を有するインディカ型品種IR24の塩基配列（配列番号27）において、ジャポニカ型品種の対応する領域と比較した結果、少なくとも以下の1) - 8)の多型を有することを見出した。

- 1) 配列番号27の塩基1239に相当する塩基がAである；
- 2) 配列番号27の塩基6227に相当する塩基がAである；
- 3) 配列番号27の塩基20680に相当する塩基がGである；
- 4) 配列番号27の塩基45461に相当する塩基がAである；
- 5) 配列番号27の塩基49609に相当する塩基がAである；
- 6) 配列番号27の塩基56368に相当する塩基がTである；
- 7) 配列番号27の塩基57629に相当する塩基がCである；及び
- 8) 配列番号27の塩基66267に相当する塩基がGである。

よって、本発明の好ましい実施態様において、上記 1) - 8) の条件のいずれか 1 つないし全部を満たす場合に、被検定イネの個体又は種子が R f - 1 遺伝子を有すると判断する。

さらに、本発明者らは配列番号 27 の塩基配列のうち、特に塩基 3 8 5 3 8 -
 5 5 4 1 2 3、好ましくは、塩基 4 2 3 5 7 - 5 3 7 4 3、より好ましくは、塩基
 4 2 1 3 2 - 4 8 8 8 3、さらにより好ましくは塩基 4 2 1 3 2 - 4 6 3 1 8 に
 R f - 1 遺伝子の機能発現に必須の領域が含まれていることを確認した。よっ
 て、本発明の一態様において、配列番号 27 の塩基配列又は配列番号 27 の塩基
 3 8 5 3 8 - 5 4 1 2 3 の塩基配列と、少なくとも 70 % 同一の塩基配列が、以
 下の条件 1) 及び 2) の少なくとも一つを満たす場合に、被検定イネの個体又は
 種子が R f - 1 遺伝子を有すると判断する：

- 1) 配列番号 27 の塩基 4 5 4 6 1 に相当する塩基が A である；及び
- 2) 配列番号 27 の塩基 4 9 6 0 9 に相当する塩基が A である。

上記の条件を満たすか否かは、公知の多型の検出方法を使用することが可能で
 ある。上記配列を含む隣接領域の塩基配列を直接決定してもよい。しかしなが
 ら、迅速性、簡便性の観点より、上述した CAPS 法又は dCAPS 法を採用す
 ることが好ましい。CAPS 法又は dCAPS 法は、例えば以下のように行うこ
 とが可能である。

i) 以下のいずれかの塩基、

- 1) 配列番号 27 の塩基 1 2 3 9 に相当する塩基；
- 2) 配列番号 27 の塩基 6 2 2 7 に相当する塩基；
- 3) 配列番号 27 の塩基 2 0 6 8 0 に相当する塩基；
- 4) 配列番号 27 の塩基 4 5 4 6 1 に相当する塩基；
- 5) 配列番号 27 の塩基 4 9 6 0 9 に相当する塩基；
- 6) 配列番号 27 の塩基 5 6 3 6 8 に相当する塩基；
- 7) 配列番号 27 の塩基 5 7 6 2 9 に相当する塩基；及び
- 8) 配列番号 27 の塩基 6 6 2 6 7 に相当する塩基

を含む隣接領域の塩基配列に基づいて、上記塩基と隣接領域の双方を増幅するよ
 うにプライマー対を作成し；

i i) 被検定イネ個体又は種子のゲノムDNAを鋳型として核酸増幅反応を行い；そして

i i i) 前記核酸増幅産物に見出される多型に基づいて被検定イネ個体又は種子がRf-1遺伝子の有無を識別する。

5 核酸増幅反応産物の多型の検出は、限定されるわけではないが、例えば以下の1) - 8) の1つないし全てを満たす場合に被検定イネ個体又は種子がRf-1遺伝子を有すると判断する、ことにより行う。

1) 配列番号27の塩基1239に相当する塩基を含む領域が、MboI認識配列を有しない；

10 2) 配列番号27の塩基6227に相当する塩基を含む領域が、BstI認識配列を有しない；

3) 配列番号27の塩基20680に相当する塩基を含む領域が、MboI認識配列を有する；

15 4) 配列番号27の塩基45461に相当する塩基を含む領域が、TaqI認識配列を有しない；

5) 配列番号27の塩基49609に相当する塩基を含む領域が、BstUI認識配列を有しない；

6) 配列番号27の塩基56368に相当する塩基を含む領域が、MspI認識配列を有しない；

20 7) 配列番号27の塩基57629に相当する塩基を含む領域が、BsaJI認識配列を有しない；及び

8) 配列番号27の塩基66267に相当する塩基を含む領域が、XbaI認識配列を有しない。

25 ただし、上記1) - 8) の領域の各多型を検出可能な制限酵素であれば、上記に限定されるものではない。

本発明の識別方法は、好ましくは、

i) 以下のいずれかの塩基、

1) 配列番号27の塩基45461に相当する塩基；又は

2) 配列番号27の塩基49609に相当する塩基；

を含む隣接領域の塩基配列に基づいて、上記塩基と隣接領域の双方を増幅するようにプライマー対を作成し；

i i) 被検定イネ個体又は種子のゲノムDNAを鋳型として核酸増幅反応を行い；そして

- 5 i i i) 前記核酸増幅産物に見出される多型に基づいて被検定イネ個体又は種子がRf-1遺伝子の有無を識別する。限定されるわけではないが、工程i i i) が、以下の条件1) 及び2) の少なくとも一つを満たす場合に被検定イネ個体又は種子がRf-1遺伝子を有すると判断する：

10 1) 配列番号27の塩基45461に相当する塩基を含む領域が、TaqI 認識配列を有しない；及び

2) 配列番号27の塩基49609に相当する塩基を含む領域が、BstUI 認識配列を有しない。

上記の配列番号27の塩基45461は、1) 配列番号69の塩基1769；
2) 配列番号70の塩基1767；3) 配列番号71の塩基1772；4) 配列
15 番号72の塩基1762；5) 配列番号73の塩基1703；6) 配列番号74
の塩基1779；7) 配列番号80の塩基1783；8) 配列番号81の塩基1
729；9) 配列番号82の塩基1781；10) 配列番号83の塩基177
4；11) 配列番号84の塩基1728；及び12) 配列番号85の塩基164
4に相当する。

- 20 増幅反応に使用するプライマー対は、配列番号27の塩基配列に基づき、好ましくは前述した条件を満たすように当業者が適宜選択可能である。好ましくは、配列番号39及び40、配列番号41及び42、配列番号43及び44、配列番号45及び46、配列番号47及び48、配列番号49及び50、配列番号51及び52、並びに配列番号53及び54からなるグループから選択される塩基配
25 列を有するいずれかのプライマー対を使用する。より好ましくは、プライマー対は、配列番号45及び46、並びに配列番号47及び48からなるグループから選択される。または、必要であれば上記プライマー対の配列に基づき、多型部位およびその隣接領域の塩基配列に対する結合特異性を失わないように置換、欠失又は付加を施した配列をプライマーとして採用することも可能である。

得られたPCR産物を、制限酵素断片長多型に関して調べるため、それぞれのPCRマーカーに存在する制限部位に対応する制限酵素で切断する。この切断は、用いる制限酵素の推奨反応温度で数時間～一昼夜インキュベーションすることにより行う。制限酵素で切断したそれぞれの増幅PCRサンプルは、例えば約0.7%ないし2%アガロースゲルあるいは約3%のMetaPhorTMアガロースゲルで電気泳動することにより解析する。例えば、ゲルをエチジウムブロマイド中紫外線下で可視化する。

本発明の最も好ましい態様において、制限酵素による切断パターンとしては、可視化されたゲル上に、使用するプライマー対に応じて、以下の表2のようなバンドの存在の有無が確認される。

表 2

				検出されるバンドの おおよそのサイズ (bp)
P 4 4 9 7 M o b I による増幅				
(配列番号 3 9 および 4 0)				
制限酵素				M b o I
被検定イネゲノムがRf-1遺伝子を有する場合 (ホモ) :				7 3 0
有しない場合:				3 8 5、3 4 5
P 9 4 9 3 B s l I による増幅				
(配列番号 4 1 および 4 2)				
制限酵素				B s l I
被検定イネゲノムがRf-1遺伝子を有する場合 (ホモ) :				1 2 6
有しない場合:				1 0 0、2 6
P 2 3 9 4 5 M b o I による増幅				
(配列番号 4 3 および 4 4)				
制限酵素				M b o I
被検定イネゲノムがRf-1遺伝子を有する場合 (ホモ) :				1 6 0、1 0 0
有しない場合:				2 6 0

を含めた 14 種の多型マーカーを使用して、R f - 1 領域の染色体構成を調べた。その結果、いずれの個体も P 9 4 9 3 B s l I ないし 5 9 0 6 6 B s a J I の間については、インディカ型品種由来の R f - 1 遺伝子を有することが確認された。この結果から、図 3 で示したような染色体構成をもつ組換え型花粉において、花粉の受精能力があること、すなわち、R f - 1 遺伝子が機能していることが示された。これは、これらの組換え型花粉が共有するインディカ型領域、すなわち、最大限に見積もっても P 4 4 9 7 M b o I 座から B 5 6 6 9 1 X b a I 座までの領域（約 65 kb）に、R f - 1 遺伝子の機能の有無を決定する配列が含まれることを意味する。

なお、本発明では、交雑による個体の出現頻度から S 1 2 5 6 4 T s p 5 0 9 I 座と R f - 1 座とが非常に近接しているとの予測に基づき、染色体歩行を始めた。実際、本発明の高精度分離分析の結果、両座の遺伝的距離は約 0.04 cM と算出された。現在公知となっている R f - 1 座連鎖マーカーのなかで、最も密接に連鎖しているマーカーは、先述の特開 2 0 0 0 - 1 3 9 4 6 5 に記載されているマーカーのひとつであるが、そのマーカーでも R f - 1 座との遺伝的距離は 1 cM と記載されている。イネの場合、平均すると 1 cM は 300 kb に相当すると考えられており、特開 2 0 0 0 - 1 3 9 4 6 5 のマーカーを起点に染色体歩行を開始したのでは、R f - 1 遺伝子領域の絞込みに相当の時間を要したと考えられる。

V I . R f - 1 遺伝子の稔性回復機能の抑制方法

本発明において、稔性回復機能を有する核酸を含む、稔性回復遺伝子（R f - 1）座を含む核酸が単離され、その全塩基配列が決定されたことにより、R f - 1 遺伝子の稔性回復機能を遺伝子工学的に制御することが可能となった。よって、本発明は、さらに、R f - 1 遺伝子の稔性回復機能を抑制する方法を提供する。

本発明の R f - 1 遺伝子の稔性回復機能を抑制する方法は、例えば、配列番号 27 の塩基配列を有する核酸、又は配列番号 27 の塩基配列と少なくとも 70% 同一の塩基配列であって、稔性回復機能を有する核酸、に対し相補的な塩基配列

から選択される、連続した少なくとも100塩基の長さのアンチセンスを導入する、ことを含む。

本発明のRf-1遺伝子の稔性回復機能を抑制する方法は、一態様において、配列番号27の塩基38538-54123、好ましくは、塩基42357-5
 5 3743、より好ましくは、塩基42132-48883の塩基配列を有する核酸、又は配列番号27の塩基38538-54123、好ましくは、塩基42357-53743、より好ましくは、塩基42132-48883、さらにより好ましくは塩基42132-46318の塩基配列と少なくとも70%同一の塩基配列であって、稔性回復機能を有する核酸、に対し相補的な塩基配列から選択
 10 される、連続した少なくとも100塩基の長さのアンチセンスを導入することを含む。

本発明のRf-1遺伝子の稔性回復機能を抑制する方法は、特に、好ましい一態様において、配列番号75のアミノ酸配列、又は配列番号75のアミノ酸配列と少なくとも70%同一のアミノ酸配列をコードする核酸であって、稔性回復機
 15 能を有する核酸、に対し相補的な塩基配列から選択される、連続した少なくとも100塩基の長さのアンチセンスを導入することを含む。

最も好ましくは、配列番号75のアミノ酸配列、又は配列番号75のアミノ酸配列と少なくとも70%同一のアミノ酸配列をコードする核酸は、以下のa)-p)の核酸から選択される：

- 20 a) 配列番号69の塩基215-2587を含む核酸；
- b) 配列番号70の塩基213-2585を含む核酸；
- c) 配列番号71の塩基218-2590を含む核酸；
- d) 配列番号72の塩基208-2580を含む核酸；
- e) 配列番号73の塩基149-2521を含む核酸；
- 25 f) 配列番号74の塩基225-2597を含む核酸；
- g) 配列番号27の塩基43907-46279を含む核酸；
- h) 配列番号80の塩基229-2601を含む核酸；
- i) 配列番号81の塩基175-2547を含む核酸；
- j) 配列番号82の塩基227-2599を含む核酸；

k) 配列番号 83 の塩基 220-2592 を含む核酸；

l) 配列番号 84 の塩基 174-2546 を含む核酸；

m) 配列番号 85 の塩基 90-2462 を含む核酸；

n) 上記 a) - m) のいずれかの核酸と少なくとも 70% 同一であり、か

5 つ、稔性回復機能を有する核酸；

o) 上記 a) - m) のいずれかの核酸と中程度又は高程度のス 트리 ン ジ ェ ン ト な 条 件 下 で ハイ ブ リ ダ イ ズ し、かつ、稔性回復機能を有する核酸；及び

p) 上記 a) - m) のいずれかの核酸に 1 ないし複数の塩基が欠失、挿入又は置換しており、かつ、稔性回復機能を有する核酸。

10

アンチセンスは、少なくとも 100 塩基以上、より好ましくは 500 塩基以上、最も好ましくは 1000 塩基以上の長さである。導入の技術上の簡便性等の観点より、好ましくは 10000 塩基以下、より好ましくは 5000 塩基以下である。アンチセンスは、公知の方法により合成することが可能である。アンチセンスのイネへの導入は公知の方法により、例えば、T e r a d a e t a l . (P l a n t C e l l P h y s i o l . 2 0 0 0 J u l , 4 1 (7) , p . 8 8 1 - 8 8 8) に記載の方法により行うことが可能である。

15

また、限定されるわけではないが、T o s l 7 (H i r o c h i k a H . e t a l . 1 9 9 6 , P r o c . N a t l . A c a d . S c i . U S A 9 3 , p . 7 7 8 3 - 7 7 8 8) などの転移因子の挿入変異系統のなかから、配列番号 27 の塩基配列内に転移因子が挿入された系統を選抜することにより、R f - 1 が破壊された系統を育成することも可能であると考えられる。さらに、植物においても相同組換えにより遺伝子破壊が研究されている。その系の確立により、配列番号 27 の塩基配列を有する核酸、または配列番号 27 の塩基配列と少なくとも 70% 同一である核酸を用いて、R f - 1 遺伝子を変異型 R f - 1 遺伝子に置換することにより、稔性回復機能を抑制することも可能であると考えられる。

25

参考文献

1. Fukuta et al. 1992, Jpn J. Breed.
d. 42 (supl. 1) p. 164-165
2. 特開平7-222588
3. 特開平9-313187
- 5 4. 特開2000-139465
5. Harushima et al. 1998, Genetics
148 p. 479-494
6. Michaels and Amasino 1998, The
Plant Journal 14 (3) p. 381-385
- 10 7. Neff et al. 1998, The plant Jou
rnal 14 (3) p. 387-392
8. D. E. Harry, et al., Theor Appl
Genet (1998) 97: p. 327-336
9. Hiei et al., Plant Journal (199
15 4), 6 (2), p. 272-282
10. Komari et al., Plant Journal (19
96) 10, p. 165-174
11. Ditta et al., Proc. Natl. Acad. Sc
i. USA (1980), 77: p. 7347-7351
- 20 12. P. Vos, ě, Nucleic Acids Res. Vo
l. 23, p. 4407-4414 (1995)
13. O. Parnaud, X. ě, Mol. Gen. Genet. (1
996) 252: p. 597-607
14. A. Konieczny ě, (1993), Plant J. 4
25 (2) p. 403-410
15. Edwards ě, Nucleic Acids Res. 8
(6): 1349, 1991
16. Murray M. G. ě, Nucleic Acids Re
s. 8 (19): 4321-5, 1980

17. Terada et al., Plant Cell Physiol. 2000 Jul, 41 (7), p. 881-888

18. Hirochika H. et al. 1996, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93, p. 7783-7788

5 19. Cui, X., Wise, R. P. and Schanbl e, P. S. (1996) The rf2 nuclear restorer gene of male-sterile T-cytoplasm maize. Science, 272, 1334-1336

10 20. Liu, F., Cui, X., Horner, H. T., Weiner, H. and Schnable, P. S. (2001) Mitochondrial aldehyde dehydrogenase activity is required for male fertility in maize. The Plant Cell, 13, 1063-1078

15

実施例

以下、実施例によって本発明を具体的に説明するが、これらは本発明の技術的範囲を限定するためのものではない。当業者は本明細書の記載に基づいて容易に本発明に修飾・変更を加えることができ、それらは本発明の技術的範囲に含まれる。

20

参考例

以下の参考例は、本出願人の先の特許出願 特願2000-247204 (2000年8月17日出願) に記載された実施例に基づく。

参考例1 Rf-1遺伝子座周辺RFLPマーカのPCRマーカ化

25 本参考例においては、Rf-1遺伝子座周辺RFLPマーカ9個 (R1877、G291、R2303、S12564、C1361、S10019、G4003、S10602、G2155) をPCRマーカ化した。

(1) 材料および方法

R f - 1 遺伝子座周辺 R F L P マーカー 9 個 (R 1 8 7 7、G 2 9 1、R 2 3 0 3、S 1 2 5 6 4、C 1 3 6 1、S 1 0 0 1 9、G 4 0 0 3、S 1 0 6 0 2、G 2 1 5 5) を農林水産省農業生物資源研究所から購入し、ベクター内の挿入塩基配列を決定した後、以下の手順で実験を行った。なお、本文中のイネ品種のうち、あそみのりはジャポニカ米であり、I R 2 4 はインディカ米である。

(2) ゲノミックライブラリーの作製

あそみのりの緑葉から、C T A B 法により各々トータルDNAを抽出した。M b o I で部分消化後、N a C l 密度勾配遠心 (6 ~ 2 0 % 直線勾配、2 0 ° C、3 7 0 0 0 r p m、4 時間、全容量 1 2 m l) によりサイズ分画を行った。各分画 (約 0. 5 m l) の一部を電気泳動にかけ、1 5 ~ 2 0 k b の DNA を含む分画を選抜・精製した。ライブラリーの作製は、L a m b d a D A S H I I (S t r a t a g e n e) をベクターに用いて、付属プロトコールに準拠して行った。パッケージングには、G i g a P a c k I I I G o l d (S t r a t a g e n e) を用いた。パッケージング後、S M B u f f e r 5 0 0 μ l およびクロロフォルム 2 0 μ l を添加した。遠心後の上清にクロロフォルム 2 0 μ l を添加し、ライブラリー溶液とした。

ライブラリー溶液の 5 0 倍希釈液 5 μ l を用いて、X L - 1 B l u e M R A (P 2) に感染させた。その結果、あそみのりについては 8 3 個のプラークが出現した。ライブラリーあたりでは、 $4. 1 5 \times 1 0^5$ p f u となり、平均挿入断片長を 2 0 k b とすると、 $8. 3 \times 1 0^9$ b p をカバーする計算になる。これは、イネゲノム ($4 \times 1 0^8$ b p) に対して十分な大きさのライブラリーであると考えられた。

(3) R 1 8 7 7、C 1 3 6 1 および G 4 0 0 3 対応ゲノミッククローンの単離

C 1 3 6 1 および G 4 0 0 3 については、R F L P マーカープローブを含むプラスミドを単離した後、制限酵素処理・電気泳動により、R F L P マーカープローブ部分を分離し、DNA 回収フィルター (T a k a r a S U P R E C - 0 1) を用いて目的の DNA を回収した。R 1 8 7 7 については、マーカープローブ両端部に対してプライマーを設計し、あそみのりトータルDNAをテンプレー

トにPCRを行い、産物を電気泳動後、前述の方法で回収した。回収したDNAは、rediprime DNA labelling system (Amersham Pharmacia) を用いてラベルし、ライブラリースクリーニング用プローブとした。なお、PCRは常法により行った（以下、同様）。

5 ライブラリーのスクリーニングは、プラークをHybond-N+ (Amersham Pharmacia) にプロットした後、常法により行った。1stスクリーニング後、陽性プラーク周辺を打ち抜き、SMバッファーに懸濁し、2ndスクリーニングに供試した。2ndスクリーニング後、陽性プラークを打ち抜き、さらに3rdスクリーニングを行い、単一プラークを分離した。

10 分離した目的プラークをSMバッファーに懸濁後、プレートライセート法によりファージを一次増殖した。得られたファージ増殖液を用いて、振とう培養法により二次増殖を行った後、Lambda starter kit (QIAGEN) を用いてファージDNAを精製した。

15 各マーカーについて、8枚のプレートを用いて1stスクリーニングを行った。プレート1枚につきライブラリー溶液を10 μ l使用した。3rdスクリーニングまで行った結果、R1877、C1361およびG4003対応ゲノミッククローンを、それぞれ、4個、3個および3個単離した。

(4) R1877のPCRマーカー化

20 単離したゲノミッククローンを解析し、RFLPの原因部位、即ち、IR24 (インディカ米) には存在しあそみのり (ジャポニカ米) には存在しないEcoRI部位を同定することにより、PCRマーカー化を行った。

25 具体的には、単離した4クローンについて以下の解析を行った。まず、T3およびT7プライマーを用いて、各クローンの挿入断片の両末端の塩基配列を明らかにした。つぎに、マーカープローブ両端部に対して外向きのプライマーを設計し、T3およびT7プライマーと組合わせ（合計4プライマー組合せ）、各クローンをテンプレートにPCRを行った。

また、各クローンをNotIおよびEcoRIで消化した後、電気泳動することにより、挿入断片長および各EcoRI断片長を推定した。

これらの解析の結果、各クローンの位置関係を明らかにすることができた。一方、RFLP解析ではマーカープローブR1877により日本晴（ジャポニカ米）では20 kb、Kasalath（インディカ米）では6.4 kbのEcoRI断片が検出されること（ftp://ftp.staff.or.jp/pub/geneticmap98/parentsouthern/chr10/R1877.JPG）ことが知られている。これらの事実を併せ考えることにより、IR24には存在しあそみのりには存在しないEcoRI部位のおおよその位置が推定できた。そこで、その周辺を増幅するように設計したプライマー組合わせ（配列番号1と配列番号2）を用いて、94℃にて1分、58℃にて1分、72℃にて2分を1サイクルとし30サイクルのPCR条件にてゲノミックPCRを行った。得られたPCR産物をEcoRI処理した後、0.7%アガロースゲルで電気泳動した。

その結果、あそみのり-IR24間で期待通りの多型が観察された。すなわち、PCR産物（約3200 bp）のEcoRI処理により、IR24では1500 bpと1700 bpとに切断されるのに対し、あそみのりでは切断されなかった。あそみのり-IR24のRIL（Recombinant Inbred Line）を用いてこのPCRマーカーをマッピングした結果、RFLPマーカー座R1877と同一領域に位置づけられ、RFLPマーカーR1877がPCRマーカーに変換されたことが証明され、このマーカーをR1877 EcoRIと命名した。

（5）G4003のPCRマーカー化

単離したゲノミッククローンを解析し、RFLPの原因部位、即ち、あそみのりには存在しIR24には存在しないHindIII部位を同定することにより、PCRマーカー化を行った。

R1877と同様の解析を行い、単離した3クローンの位置関係を明らかにした。RFLP解析ではマーカープローブG4003により日本晴（ジャポニカ米）では3 kb、Kasalathでは10 kb（インディカ米）のHindIII断片が検出されること（ftp://ftp.staff.or.jp/pub/geneticmap98/parentsouthern/chr10

／R 1 8 7 7. J P G) ことが知られている。これらの事実を併せ考えることにより、あそみのりには存在し I R 2 4 には存在しない H i n d I I I 部位が、2 個の候補部位のいずれかであると推定された。そこで、各 H i n d I I I 部位周辺を増幅するように設計したプライマー組合せ（配列番号 3 および配列番号 4）を用いて、9 4℃にて 3 0 秒、5 8℃にて 3 0 秒、7 2℃にて 3 0 秒を 1 サイクルとし 3 5 サイクルの条件で、ゲノミック P C R を行った。得られた P C R 産物を H i n d I I I 処理後、2 % アガロースゲルで電気泳動したところ、マーカープロンプ内部の H i n d I I I 部位が多型部位であることが示された。すなわち、P C R 産物（3 6 2 b p）の H i n d I I I 処理により、あそみのりでは 9 5 b p と 2 6 7 b p とに切断されるのに対し、I R 2 4 では切断されなかった。マッピングの結果、R F L P マーカー G 4 0 0 3 が P C R マーカーに変換されたことが証明され、このマーカーを G 4 0 0 3 H i n d I I I（配列番号 1 9）と命名した。

（6）C 1 3 6 1 の P C R マーカー化

単離したゲノミッククローンの塩基配列情報に基づいてプライマーを設計した。あそみのりおよび I R 2 4 のトータル DNA をテンプレートに P C R を行い、産物を電気泳動後、既述の方法で回収した。回収した DNA をテンプレートに用いて、A B I M o d e l 3 1 0 により各品種の塩基配列を解読し、多型作出に利用可能な変異を探索した。

R 1 8 7 7 と同様の解析を行い、単離した 3 クローンのおおよその位置関係を明らかにすることはできた。しかし、C 1 3 6 1 マーカー周辺には P C R 増幅しにくい領域や塩基配列を解読できない領域が存在することが明らかになり、R F L P 原因部位を同定することは困難であると考えられた。そこで、比較的長い P C R 産物（2. 7 k b）が得られる領域に着目し、d C A P S 化を試みることにした。

具体的には、あそみのり、コシヒカリ（以上、ジャポニカ米）及び K a s a l a t h、I R 2 4（以上、インディカ米）を用いて、前記領域のゲノミック P C R 産物の塩基配列を比較した結果、ジャポニカ米・インディカ米間で多型を示す部位を 6 ヶ所見出すことができた。そのうちのひとつについて、d C A P S 化を

行った。この過程で、プライマーとして配列番号 5 および配列番号 6 を用い、94℃にて30秒、58℃にて30秒、72℃にて30秒を1サイクルとし35サイクルのPCR条件にてPCRを行った。得られたPCR産物をMwo I 処理後、3% MetaPhorTMアガロースで電気泳動することにより解析した。

5 あそみのりでは2箇所で見断され、約25bp、50bp、79bpのバンドが観察され、IR24では1箇所で見断され、約50bp、107bpのバンドが観察された。マッピングの結果、RFLPマーカーC1361がPCRマーカーに変換されたことが証明され、このマーカーをC1361 Mwo I (配列番号20) と命名した。

10 (7) G2155のPCRマーカー化

マーカープローブ両端部に対してプライマーを設計し、あそみのり、コシヒカリ、IR24およびIL216 (戻し交雑によりコシヒカリにRf-1遺伝子を導入した系統、遺伝子型はRf-1/Rf-1) のトータルDNAをテンプレートにPCRを行った。PCR産物の精製および多型作出に利用可能な変異の探索は、既述の方法で行った。

15 具体的には、供試品種の対応領域の塩基配列を比較した結果、Rf-1遺伝子保有品種系統 (IR24およびIL216) とRf-1遺伝子非保有品種系統 (あそみのりおよびコシヒカリ) との間の変異が3ヶ所見出された。そのうちのひとつを利用して、dCAPS化を行った。この過程で、プライマーとして配列番号7及び配列番号8を用い、94℃にて30秒、58℃にて30秒、72℃にて30秒を1サイクルとし35サイクルのPCR条件にてPCRを行った。得られたPCR産物をMwo I 処理後、3% MetaPhorTMアガロースで電気泳動することにより解析した。あそみのりでは1箇所で見断され、約25bp及び105bpのバンドが観察され、IR24では2箇所で見断され、約25bp、27bp及び78bpのバンドが観察された。マッピングの結果、RFLPマーカーG2155がPCRマーカーに変換されたことが証明され、このマーカーをG2155 Mwo I (配列番号21) と命名した。

(8) G291のPCRマーカー化

マーカープローブ内部配列に対してプライマーを設計し、種々のプライマー組合わせでPCRを行い、期待される大きさの増幅産物が得られるプライマー組合わせを探索した。探索により見出したプライマー組合わせで、あそみのり、コシヒカリ、IR24およびIL216のトータルDNAをテンプレートにPCRを行った。PCR産物の精製および多型作出に利用可能な変異の探索は、既述の方法で行った。

具体的には、マーカープローブ配列に対して設計したプライマーを用いて、供試品種のゲノミックPCRを行い、産物の塩基配列を比較した。その結果、Rf-1遺伝子保有品種系統（IR24およびIL216）とRf-1遺伝子非保有品種系統（あそみのりおよびコシヒカリ）との間の変異が4ヶ所見出された。そのうちのひとつを利用して、dCAPS化を行った。この過程で、プライマーとして配列番号9及び配列番号10を用い、94℃にて30秒、58℃にて30秒、72℃にて30秒を1サイクルとし35サイクルのPCR条件にてPCRを行った。得られたPCR産物をMspI処理後、3%MetaPhorTMアガロースで電気泳動することにより解析した。Rf-1遺伝子保有品種系統では2箇所切断され、約25bp、49bp及び55bpのバンドが観察され、Rf-1遺伝子非保有品種系統では1箇所切断され、約25bp及び104bpのバンドが観察された。マッピングの結果、RFLPマーカーク291がPCRマーカに変換されたことが証明され、このマーカをG291 MspI（配列番号22）と命名した。

(9) R2303のPCRマーカ化

マーカープローブ内部配列に対してプライマーを設計し、あそみのり（ジャポニカ米）、IR24およびKasalath（インディカ米）のトータルDNAをテンプレートにPCRを行った。産物の精製および多型作出に利用可能な変異の探索は、既述の方法で行った。

供試品種の対応領域の塩基配列を比較した結果、ジャポニカ米-インディカ米間の変異が見出された。この変異は、BslI認識部位に生じていたので、そのままCAPSマーカとした。この過程で、プライマーとして配列番号11及び配列番号12を用い、94℃にて1分、58℃にて1分、72℃にて2分を1サ

イクルとし 30 サイクルの PCR 条件にて PCR を行った。得られた PCR 産物を B s l I 処理後、2 % アガロースで電気泳動することにより解析した。ジャポニカ米では 1 箇所切断され、約 238 bp 及び 1334 bp のバンドが観察され、インディカ米では 2 箇所切断され、約 238 bp、655 bp 及び 679 bp のバンドが観察された。マッピングの結果、RFLP マーカー R 2303 が PCR マーカーに変換されたことが証明され、このマーカーを R 2303 B s l I (配列番号 23) と命名した。

(10) S 10019 の PCR マーカー化

S 10019 の PCR マーカー化は、上記 R 2303 の PCR マーカー化の方法 (9) にしたがって行った。

具体的には、供試品種の対応領域の塩基配列を比較した結果、ジャポニカ米ーインディカ米間の変異が見出された。この変異は、B s t U I 認識部位に生じていたので、そのまま CAPS マーカーとした。この過程で、プライマーとして配列番号 13 及び配列番号 14 を用い、94℃にて 1 分、58℃にて 1 分、72℃にて 1 分を 1 サイクルとし 30 サイクルの PCR 条件にて PCR を行った。得られた PCR 産物を B s t U I 処理後、2 % アガロースで電気泳動することにより解析した。ジャポニカ米では 1 箇所切断され、約 130 bp 及び 462 bp のバンドが観察され、インディカ米では 2 箇所切断され、約 130 bp、218 bp 及び 244 bp のバンドが観察された。マッピングの結果、RFLP マーカー S 10019 が PCR マーカーに変換されたことが証明され、このマーカーを B s t U I (配列番号 24) と命名した。

(11) S 10602 の PCR マーカー化

S 10602 の PCR マーカー化は、上記 R 2303 の PCR マーカー化の方法 (9) にしたがって行った。

具体的には、供試品種の対応領域の塩基配列を比較した結果、ジャポニカ米ーインディカ米間の変異が見出された。その変異を利用して、CAPS 化を行った。この過程で、プライマーとして配列番号 15 及び配列番号 16 を用い、94℃にて 1 分、58℃にて 1 分、72℃にて 1 分を 1 サイクルとし 33 サイクルの PCR 条件にて PCR を行った。得られた PCR 産物を K p n I 処理後、2 %

アガロースで電気泳動することにより解析した。ジャポニカ米では1箇所切断され、約117bp及び607bpのバンドが観察され、インディカ米では切断されず、724bpのバンドが観察された。マッピングの結果、RFLPマーカース10602がPCRマーカに変換されたことが証明され、このマーカを

5 S10602 KpnI（配列番号25）と命名した。

（12）S12564のPCRマーカ化

S12564のPCRマーカ化は、R2303のPCRマーカ化の方法にしたがって行った。

具体的には、供試品種の対応領域の塩基配列を比較した結果、ジャポニカ米ーインディカ米間の変異が見出された。その変異を利用して、dCAPS化を行った。この過程で、プライマーとして配列番号17及び配列番号18を用い、94℃にて30秒、58℃にて30秒、72℃にて30秒を1サイクルとし35サイクルのPCR条件にてPCRを行った。得られたPCR産物をTsp509I処理後、3%MetaPhorTMアガロースで電気泳動することにより解析し

10 た。ジャポニカ米では2箇所切断され、26bp、41bp及び91bpのバンドが観察され、インディカ米では1箇所切断され、41bp及び117bpのバンドが観察された。マッピングの結果、RFLPマーカース12564がPCRマーカに変換されたことが証明され、このマーカをS12564 Tsp509I（配列番号26）と命名した。

20 参考例2 Rf-1遺伝子座のマッピング

MSコシヒカリにMS-FRコシヒカリの花粉をかけて作成したF1集団1042個体の幼苗からDNAを抽出し、分析に供試した。ここで、MSコシヒカリとは、細胞質をBT型雄性不稔細胞質に置換したコシヒカリである（世代：BC10F1）。また、MS-FRコシヒカリとは、IR8（農業生物資源研究所より入手）に由来するRf-1遺伝子をMSコシヒカリに導入した系統である（Rf-1遺伝子座ヘテロ）。

25

まず、Rf-1遺伝子座を挟むと考えられる、参考例1に記載の2個のマーカ一座R1877 EcoRIおよびG2155 MwoIにおける各個体の遺伝子型を調査した。R1877 EcoRI座またはG2155 MwoI座

に関してジャポニカ米型ホモ個体を、これら2マーカー座間での組換え体とみなした。つぎに、各組換え体について、さらに、G291 MspI座、R2303 BslI座、S12564 Tsp509I座、C1361 MwoI座、S10019 BstUI座、G4003 HindIII座およびS10602 KpnI座の遺伝子型を調査し、組換え位置を同定した。

R1877 EcoRI座およびG2155 MwoI座に関する遺伝子型調査の結果、稔性を回復した46個体がRf-1遺伝子座付近での組換え体であることが明らかになった。これら組換え体について、Rf-1遺伝子座近傍マーカー座の遺伝子型を調査した結果を表3に示す。

10

表3 Rf-1 座近傍組換え個体のマーカー座遺伝子型

Locus	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23
R1877 EcoRI	J	J	J	J	J	J	J	J	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
G291 MspI	H	J	J	J	J	J	J	J	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
R2303 BslI	H	H	J	J	J	J	J	J	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
S12564 Tsp509I	H	H	H	H	H	H	H	J	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
C1361 MwoI	H	H	H	H	H	H	H	H	J	J	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
S10019 BstUI	H	H	H	H	H	H	H	H	J	J	J	J	J	J	J	J	H	H	H	H	H	H	H
G4003 HindIII	H	H	H	H	H	H	H	H	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J
S10602 KpnI	H	H	H	H	H	H	H	H	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J
G2155 MwoI	H	H	H	H	H	H	H	H	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J

24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46
H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	H	H
J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J

J コシヒカリ型ホモ

H コシヒカリ型/MS-FRコシヒカリ型ヘテロ

表 3 に示されたように、S 1 2 5 6 4 T s p 5 0 9 I マーカーがジャポニカ型である個体 8 と、C 1 3 6 1 M w o I 座マーカーがジャポニカ型である個体 9 および個体 1 0 が得られた。いずれも稔性を回復した個体であることから、前者は R f - 1 座と S 1 2 5 6 4 T s p 5 0 9 I 座との間での組換え個体、R f - 1 座と C 1 3 6 1 M w o I 座との間での組換え個体と解し、R f - 1 遺伝子は S 1 2 5 6 4 T s p 5 0 9 I 座と C 1 3 6 1 M w o I 座との間に存在することが判明した。上記交配において、B T 型雄性不稔細胞質を持つ個体では、R f - 1 遺伝子をもつ花粉のみが受精能力を持つとの報告 (C. S h i n j y o, J A P A N. J. G E N E T I C S V o l. 4 4, N o. 3 : 1 4 9 - 1 5 6 (1 9 6 9)) に基づいて、R f - 1 遺伝子座を詳細連鎖地図上に位置づけることができた (図 4)

実施例 1 R f - 1 座極近傍組換え個体の獲得

(材料および方法)

MS コシヒカリ (世代 : B C 1 0 F 1) に MS - F R コシヒカリ (世代 : B C 9 F 1, R f - 1 座ヘテロ) の花粉をかけて作成した B C 1 0 F 1 集団 4 1 0 3 個体を用い、各個体から DNA を抽出し、上記参考例 2 と同様に、S 1 2 5 6 4 T s p 5 0 9 I 座および C 1 3 6 1 M w o I 座の遺伝子型を調査した。S 1 2 5 6 4 T s p 5 0 9 I 座の遺伝子型がコシヒカリ型ホモ個体を、R f - 1 座と S 1 2 5 6 4 T s p 5 0 9 I 座との間での組換えにより生じた個体とみなし、C 1 3 6 1 M w o I 座の遺伝子型がコシヒカリ型ホモ個体を、R f - 1 座と C 1 3 6 1 M w o I 座との間での組換えにより生じた個体とみなした。

(結果および考察)

4 1 0 3 個体を調査した結果、R f - 1 座と S 1 2 5 6 4 T s p 5 0 9 I 座との間での組換え個体を 1 個体、R f - 1 座と C 1 3 6 1 M w o I 座との間での組換え個体を 6 個体見出した。一方、上記参考例 2 において交配により得られた 1 0 4 2 個体を調査した結果、表 3 に示したように、R f - 1 座と S 1 2 5 6 4 T s p 5 0 9 I 座との間での組換え個体を 1 個体、R f - 1 座と C 1 3 6 1 M w o I 座との間での組換え個体を 2 個体見出している。

合計すると、5145個体から、Rf-1座とS12564 Tsp509I座との間での組換え個体を2個体、Rf-1座とC1361 MwoI座との間での組換え個体を8個体獲得できたことになる。これら10個体を以下の実施例における高精度分離分析に供試することにした。

5 実施例2 染色体歩行

(1) 1回目染色体歩行

(材料および方法)

ジャポニカ品種あそみのり (Rf-1非保有品種) のゲノムDNAを用いて、参考例1に記載したようにLambda DASH IIベクターによりゲノミックライブラリーを作成し、染色体歩行に供試した。

RFLPプローブ S12564の部分塩基配列 (アクセッション番号D47284) に対して次のプライマー対:

5' -atcaggagccttcaaattgggaac-3' (配列番号29) および

5' -ctcgcaaattgcttaattttgacc-3' (配列番号30)

を設計し、あそみのりトータルDNAをテンプレートに用いて、定法に従いPCRを行った。得られた約1200bpの増幅産物を、アガロースゲルでの電気泳動後、QIAEXII (QIAGEN社) を用いて精製した。精製したDNAは、rediprime DNA labelling system (Amersham Pharmacia社) を用いてラベルし、ライブラリースクリーニング用プローブ (プローブA、図1) とした。

ライブラリーのスクリーニングは、プラークをHybond-N⁺ (Amersham Pharmacia社) にプロットした後、常法により行った。単一プラークを分離した後、Lambda Midi kit (QIAGEN社) を用いてプレートライセート法によりファージDNAを精製した。

25 (結果および考察)

スクリーニングにより4個のクローンが得られ、末端塩基配列の解析および制限酵素断片長解析の結果から、そのうちのふたつ (WSA1およびWSA3) は図1に示した位置関係にあることが示された。プライマー歩行により、WSA1

およびWSA3に対応するあそみのりゲノム塩基配列を決定した（DNAシーケンサー377、ABI社）。

（2）2回目染色体歩行

（材料および方法）

- 5 既述のあそみのりゲノミックライブラリーに加え、インディカ品種IR24（Rf-1保有品種）のゲノムDNAから同様に作成したIR24ゲノミックライブラリーを、染色体歩行に供試した。

（1）で明らかにしたあそみのりゲノム塩基配列に対して次のプライマー対：

5' - tgaaggagttaatgggtgcgtgacg - 3' （配列番号31）および

- 10 5' - ttgccgagcacacttgccatgtgc - 3' （配列番号32）

を設計し、WSA3のDNAをテンプレートに用いて、定法に従いPCRを行った。得られた524bpの増幅産物を、既述の方法で精製・ラベルし、ライブラリースクリーニング用プローブ（プローブE、図1）とした。

- 15 ライブラリーのスクリーニングおよびファージDNAの精製は、既述の方法で行った。

（結果および考察）

- 20 あそみのりゲノミックライブラリースクリーニングにより15個のクローンが得られ、末端塩基配列の解析および制限酵素断片長解析の結果から、そのうちのひとつ（WSE8）は図1に示した位置関係にあることが示された。プライマー歩行により、WSE8に対応するあそみのりゲノム塩基配列を決定した。

- 25 IR24ゲノミックライブラリースクリーニングにより7個のクローンが得られ、末端塩基配列の解析および制限酵素断片長解析の結果から、そのうちのふたつ（XSE1およびXSE7）は図1に示した位置関係にあることが示された。プライマー歩行により、XSE1およびXSE7に対応するIR24ゲノム塩基配列を決定した。

（3）3回目染色体歩行

（材料および方法）

既述のあそみのりゲノミックライブラリーおよびIR24ゲノミックライブラリーを、染色体歩行に供試した。

(2) で明らかにしたあそみのりゲノム塩基配列に対して次のプライマー対：

5' - gcgacgcaatggacatagtgctcc - 3' (配列番号 33) および

5' - ttacctgccaagcaatatccatcg - 3' (配列番号 34)

を設計し、WSE8のDNAをテンプレートに用いて、定法に従いPCRを行った。得られた1159bpの増幅産物を、既述の方法で精製・ラベルし、ライブラリースクリーニング用プローブ（プローブF、図1）とした。

ライブラリーのスクリーニングおよびファージDNAの精製は、既述の方法で行った。

(結果および考察)

10 あそみのりゲノミクライブラリースクリーニングにより8個のクローンが得られ、末端塩基配列の解析および制限酵素断片長解析の結果から、そのうちのふたつ（WSF5およびWSF7）は図1に示した位置関係にあることが示された。プライマー歩行により、WSF5およびWSF7に対応するあそみのりゲノム塩基配列を決定した。

15 IR24ゲノミクライブラリースクリーニングにより13個のクローンが得られ、末端塩基配列の解析および制限酵素断片長解析の結果から、そのうちのふたつ（XSF4およびXSF20）は図1に示した位置関係にあることが示された。プライマー歩行により、XSF4およびXSF20に対応するIR24ゲノム塩基配列を決定した。

20 (4) 4回目染色体歩行

(材料および方法)

既述のあそみのりゲノミクライブラリーおよびIR24ゲノミクライブラリーを、染色体歩行に供試した。

(3) で明らかにしたあそみのりゲノム塩基配列に対してプライマー対：

25 5' - aaggcatactcagtgaggaggcaag - 3' (配列番号 35) および

5' - ttaacctgaccgcaagcacctgtc - 3' (配列番号 36)

を設計し、WSF7のDNAをテンプレートに用いて、定法に従いPCRを行った。得られた456bpの増幅産物を、既述の方法で精製・ラベルし、ライブラリースクリーニング用プローブ（プローブG、図1）とした。

ライブラリーのスクリーニングおよびファージDNAの精製は、既述の方法で行った。

(結果および考察)

あそみのりゲノミックライブラリースクリーニングにより6個のクローンが得られ、末端塩基配列の解析および制限酵素断片長解析の結果から、そのうちのふたつ(WSG2およびWSG6)は図1に示した位置関係にあることが示された。プライマー歩行により、WSG2およびWSG6に対応するあそみのりゲノム塩基配列を決定した。

IR24ゲノミックライブラリースクリーニングにより14個のクローンが得られ、末端塩基配列の解析および制限酵素断片長解析の結果から、そのうちの3クローン(XSG8、XSG16およびXSG22)は図1に示した位置関係にあることが示された。プライマー歩行により、XSG8、XSG16およびXSG22に対応するIR24ゲノム塩基配列を決定した。

(5) 5回目染色体歩行

(材料および方法)

既述のIR24ゲノミックライブラリーを、染色体歩行に供試した。

本発明者らは、TIGR(The Institute for Genomic Research)の公開ホームページを閲覧し、RFLPマーカーS12564を包含するBAC(Bacterial Artificial Chromosome)クローン(アクセッション番号AC068923)が公開データベース(GenBank)に登録されていることを見出した。このBACクローンは、ジャポニカ品種日本晴のゲノムDNAを含むものであり、塩基配列を比較したところ、(1) - (4)で作成したあそみのりおよびIR24のコンテ

25 そこで、このBACクローンの一部を増幅する次のプライマー対:

5' - tggatggactatgtggggtcagtc - 3' (配列番号37) および

5' - agtgggaagtggagagagtagggag - 3' (配列番号38)

を設計し、I R 2 4 トータルDNAをテンプレートに用いて、定法に従いP C Rを行なった。得られた約6 0 0 b pの増幅産物を、既述の方法で精製・ラベルし、ライブラリースクリーニング用プローブ（プローブH、図1）とした。

ライブラリーのスクリーニングおよびファージDNAの精製は、既述の方法で行った。

（結果および考察）

I R 2 4 ゲノミックライブラリースクリーニングにより1 5 個のクローンが得られ、末端塩基配列の解析および制限酵素断片長解析の結果から、そのうちのひとつ（X S H 1 8）は図1に示した位置関係にあることが示された。プライマー歩行により、X S H 1 8に対応するI R 2 4 ゲノム塩基配列を決定した。

実施例 3 高精度分離分析

（1）P C R マーカーP 4 4 9 7 M b o I の開発

実施例2で明らかにしたI R 2 4 コンティグに対応するゲノム塩基配列（配列番号2 7）とあそみのりコンティグに対応するゲノム塩基配列（配列番号2 8）とを比較した結果、配列番号2 7の1 2 3 9番目の塩基がAであるのに対し、当該位置に対応する配列番号2 8の1 2 6 3 1番目の塩基はGであることを見出した。

この差異の検出には、先ず次のプライマー対：

20 P 4 4 9 7 M b o I F :

5' - ccctccaacacataaaatggttgag - 3' （配列番号3 9）

（配列番号2 7の塩基8 5 3 - 8 7 6に相当）

（配列番号2 8の塩基1 2 2 4 7 - 1 2 2 7 0に相当）

および

25 P 4 4 9 7 M b o I R :

5' - ttctctgccaggaaactgttagatg - 3' （配列番号4 0）

（配列番号2 7の塩基1 5 8 3 - 1 5 6 0に相当）

（配列番号2 8の塩基1 2 9 7 5 - 1 2 9 5 2に相当）

を用いて当該部位周辺のPCR増幅を行い約730bpの断片を増幅する。増幅産物をMboI処理後、アガロースゲルで電気泳動することにより、可視化することができる。すなわち、IR24DNAからの増幅産物はMboIの認識配列（GATC）をもたず、MboI処理により切断されないのに対し、あそみのりDNAからの増幅産物はMboIの認識配列をもち、MboI処理により切断されるため、MboI処理後のDNA鎖長が異なり、アガロースゲル中の移動度の差異として検出することができる。

(2) PCRマーカーP9493 BslIの開発

実施例2で明らかにしたIR24コンティグに対応するゲノム塩基配列（配列番号27）とあそみのりコンティグに対応するゲノム塩基配列（配列番号28）とを比較した結果、配列番号27の6227番目の塩基がAであるのに対し、当該位置に対応する配列番号28の17627番目の塩基はCであることを見出した。

この差異の検出には、先ず次のプライマー対：

15 P9493 BslI F：

5' -gcgatcttatacgcatactatgcg-3' （配列番号41）

（配列番号27の塩基6129-6152に相当）

（配列番号28の塩基17529-17552に相当）

および

20 P9493 BslI R：

5' -aaagtctttgttccttcaccaagg-3' （配列番号42）

（配列番号27の塩基6254-6231に相当）

（配列番号28の塩基17654-17631に相当）

を用いて当該部位周辺のPCR増幅を行い126bpの断片を増幅する。増幅産物をBslI処理後、アガロースゲルで電気泳動することにより、可視化することができる。すなわち、IR24DNAからの増幅産物はBslIの認識配列（CCNNNNNNNGG）をもたず、BslI処理により切断されないのに対し、あそみのりDNAからの増幅産物はBslIの認識配列をもち、BslI処

理により切断されるため、B s l I 処理後のDNA鎖長が異なり、アガロースゲル中の移動度の差異として検出することができる。

5 なお、本マーカの開発には、d C A P S 法 (M i c h a e l s a n d A
m a s i n o 1 9 9 8, N e f f e t a l 1 9 9 8) を適用した。具
体的には、前記 P 9 4 9 3 B s l I R プライマーの使用により、配列番号 2
7 の 6 2 3 6 および配列番号 2 8 の 1 7 6 3 6 の a が g に置換される。これによ
り、あそみのり DNA 由来の断片は、配列番号 2 8 の 1 7 6 2 6 - 1 7 6 3 6 の
部分の配列が C C t t t c c t t G G となり、B s l I 処理により切断される。

(3) P C R マーカ P 2 3 9 4 5 M b o I の開発

10 実施例 2 で明らかにした I R 2 4 コンティグに対応するゲノム塩基配列 (配列
番号 2 7) とあそみのりコンティグに対応するゲノム塩基配列 (配列番号 2 8)
とを比較した結果、配列番号 2 7 の 2 0 6 8 0 番目の塩基が G であるのに対し、
当該位置に対応する配列番号 2 8 の 3 2 0 7 9 番目の塩基は A であることを見出
した。

15 この差異の検出には、先ず次のプライマー対 :

P 2 3 9 4 5 M b o I F :

5' - g a g g a t t t a t c a a a a c a g g a t g g a c g - 3' (配列番号 4 3)

(配列番号 2 7 の塩基 2 0 5 1 9 - 2 0 5 4 4 に相当)

(配列番号 2 8 の塩基 3 1 9 1 8 - 3 1 9 4 3 に相当)

20 および

P 2 3 9 4 5 M b o I R :

5' - t g g g c g g c a g c a g t g g a g g a t a g a - 3' (配列番号 4 4)

(配列番号 2 7 の塩基 2 0 7 7 8 - 2 0 7 5 5 に相当)

(配列番号 2 8 の塩基 3 2 1 7 7 - 3 2 1 5 4 に相当)

25 を用いて当該部位周辺の P C R 増幅を行い 2 6 0 b p の断片を増幅する。増幅産
物を M b o I 処理後、アガロースゲルで電気泳動することにより、可視化するこ
とができる。すなわち、I R 2 4 DNA からの増幅産物は M b o I の認識配列
(G A T C) をもち、M b o I 処理により切断されるのに対し、あそみのり DN
A からの増幅産物は M b o I の認識配列をもたず、M b o I 処理により切断され

ないため、M b o I 処理後のDNA鎖長が異なり、アガロースゲル中の移動度の差異として検出することができる。

(4) PCRマーカーP 4 1 0 3 0 T a q I の開発

実施例 2 で明らかにした I R 2 4 コンティグに対応するゲノム塩基配列（配列番号 2 7）とあそみのりコンティグに対応するゲノム塩基配列（配列番号 2 8）とを比較した結果、配列番号 2 7 の 4 5 4 6 1 番目の塩基が A であるのに対し、当該位置に対応する配列番号 2 8 の 4 9 1 6 4 番目の塩基は G であることを見出した。

この差異の検出には、先ず次のプライマー対：

10 P 4 1 0 3 0 T a q I F :

5' -aagaaggagggttatagaatctg- 3' (配列番号 4 5)

(配列番号 2 7 の塩基 4 5 3 6 9 - 4 5 3 9 2 に相当)

(配列番号 2 8 の塩基 4 9 0 7 2 - 4 9 0 9 5 に相当)

および

15 P 4 1 0 3 0 T a q I R :

5' -ataatcaggactaacaccactgctc- 3' (配列番号 4 6)

(配列番号 2 7 の塩基 4 5 6 4 8 - 4 5 6 2 5 に相当)

(配列番号 2 8 の塩基 4 9 3 5 1 - 4 9 3 2 8 に相当)

を用いて当該部位周辺のPCR増幅を行い280bpの断片を増幅する。増幅産物をT a q I 処理後、アガロースゲルで電気泳動することにより、可視化することができる。すなわち、I R 2 4 DNAからの増幅産物はT a q I の認識配列 (T C G A) をもたず、T a q I 処理により切断されないのに対し、あそみのりDNAからの増幅産物はT a q I の認識配列をもち、T a q I 処理により切断されるため、T a q I 処理後のDNA鎖長が異なり、アガロースゲル中の移動度の差異として検出することができる。

(5) PCRマーカーP 4 5 1 7 7 B s t U I の開発

実施例 2 で明らかにした I R 2 4 コンティグに対応するゲノム塩基配列（配列番号 2 7）とあそみのりコンティグに対応するゲノム塩基配列（配列番号 2 8）とを比較した結果、配列番号 2 7 の 4 9 6 0 9 番目の塩基が A であるのに対し、

当該位置に対応する配列番号 28 の 53311 番目の塩基は G であることを見出した。

この差異の検出には、先ず次のプライマー対：

P 4 5 1 7 7 B s t U I F：

- 5 5' - acgagtagtagcgatcttccagcg - 3' (配列番号 47)
 (配列番号 27 の塩基 49355 - 49378 に相当)
 (配列番号 28 の塩基 53057 - 53080 に相当)

および

P 4 5 1 7 7 B s t U I R：

- 10 5' - cagcgtgaaactaaaaacggaggc - 3' (配列番号 48)
 (配列番号 27 の塩基 50166 - 50143 に相当)
 (配列番号 28 の塩基 53868 - 53845 に相当)

を用いて当該部位周辺の PCR 増幅を行い 812 bp の断片を増幅する。増幅産物を B s t U I 処理後、アガロースゲルで電気泳動することにより、可視化することができる。すなわち、I R 24 DNA からの増幅産物は B s t U I の認識配列 (C G C G) を 2 個所もち、B s t U I 処理により 3 個の断片に切断されるの
 15 に対し、あそみのり DNA からの増幅産物は B s t U I の認識配列を 3 個所もち、B s t U I 処理により 4 個の断片に切断されるため、B s t U I 処理後の DNA 鎖長が異なり、アガロースゲル中の移動度の差異として検出することができ
 20 る。

(6) PCR マーカー B 6 0 3 0 4 M s p I の開発

実施例 2 で明らかにした I R 24 コンティグに対応するゲノム塩基配列 (配列番号 27) と既述の B A C クローン (アクセッション番号 A C 0 6 8 9 2 3) の塩基配列とを比較した結果、配列番号 27 の 56368 番目の塩基が T であるの
 25 に対し、当該位置に対応する A C 0 6 8 9 2 3 の塩基は C であることを見出した。

この差異の検出は、先ず次のプライマー対：

B 6 0 3 0 4 M s p I F：

- 5' - atcccacatcatcataatccgacc - 3' (配列番号 49)

(配列番号 27 の塩基 5 6 1 4 9 – 5 6 1 7 2 に相当)

および

B 6 0 3 0 4 M s p I R :

5' – agcttctcccttggatacgggtggcg – 3' (配列番号 50)

5 (配列番号 27 の塩基 5 6 4 7 9 – 5 6 4 5 5 に相当)

を用いて当該部位周辺の P C R 増幅を行い約 3 3 0 b p の断片を増幅する。増幅産物を M s p I 処理後、アガロースゲルで電気泳動することにより、可視化することができる。すなわち、I R 2 4 DNA からの増幅産物は M s p I の認識配列 (C C G G) をもたず、M s p I 処理により切断されないのに対し、日本晴 D N A からの増幅産物は M s p I の認識配列をもち、M s p I 処理により切断されるため、M s p I 処理後の DNA 鎖長が異なり、アガロースゲル中の移動度の差異として検出することができる。

15 なお、本マーカの開発には、d C A P S 法を適用した。具体的には、B 6 0 3 0 4 M s p I R プライマーの使用により、配列番号 27 の 5 6 4 6 3 の g が t に置換される。これにより、配列番号 27 の 5 6 4 6 0 – 5 6 4 6 3 の M s p I の認識配列 C C G G が c c g t となり、M s p I によって切断されなくなる。よって、I R 2 4 由来の断片は M s p I の認識配列を一つも有さず、一方、日本晴由来の DNA は、配列番号 27 の 5 6 3 6 7 – 5 6 3 7 0 に対応する領域に 1 箇所 M s p I の認識配列を有することとなる。

20 (7) P C R マーカ B 5 9 0 6 6 B s a J I の開発

実施例 2 で明らかにした I R 2 4 コンティグに対応するゲノム塩基配列 (配列番号 27) と既述の B A C クローン (アクセッション番号 A C 0 6 8 9 2 3) の塩基配列とを比較した結果、配列番号 27 の 5 7 6 2 9 番目の塩基が C であるのに対し、当該位置に対応する A C 0 6 8 9 2 3 の塩基は C C であることを見出した。

この差異の検出は、先ず次のプライマー対：

B 5 9 0 6 6 B s a J I F :

5' – atttgttggtagttgcggctgag – 3' (配列番号 51)

(配列番号 27 の塩基 5 7 5 6 3 – 5 7 5 8 6 に相当)

および

B 5 9 0 6 6 B s a J I R :

5' - g c c c a a a c t c a a a a g g a g a g a a c c - 3' (配列番号 5 2)

(配列番号 2 7 の塩基 5 7 9 8 3 - 5 7 9 6 0 に相当)

- 5 を用いて当該部位周辺の P C R 増幅を行い約 4 2 0 b p の断片を増幅する。増幅産物を B s a J I 処理後、アガロースゲルで電気泳動することにより、可視化することができる。すなわち、I R 2 4 D N A からの増幅産物は B s a J I の認識配列 (C C N N G G) をもたず、B s a J I 処理により切断されないのに対し、日本晴 D N A からの増幅産物は B s a J I の認識配列をもち、B s a J I 処理により切断されるため、B s a J I 処理後の D N A 鎖長が異なり、アガロースゲル中の移動度の差異として検出することができる。

(8) P C R マーカー B 5 6 6 9 1 X b a I の開発

- 15 実施例 2 で明らかにした I R 2 4 コンティグに対応するゲノム塩基配列 (配列番号 2 7) と既述の B A C クローン (アクセッション番号 A C 0 6 8 9 2 3) の塩基配列とを比較した結果、配列番号 2 7 の 6 6 2 6 7 番目の塩基が G であるのに対し、当該位置に対応する A C 0 6 8 9 2 3 の塩基は C であることを見出した。

この差異の検出は、先ず次のプライマー対:

B 5 6 6 9 1 X b a I F :

- 20 5' - c c t c a a g t c t c c c c t a a a g c c a c t - 3' (配列番号 5 3)

(配列番号 2 7 の塩基 6 6 1 2 9 - 6 6 1 5 2 に相当)

および

B 5 6 6 9 1 X b a I R :

5' - g c t c t a c t g c t g a t a a a c c g t g a g - 3' (配列番号 5 4)

- 25 (配列番号 2 7 の塩基 6 6 7 9 9 - 6 6 7 7 6 に相当)

を用いて当該部位周辺の P C R 増幅を行い約 6 7 0 b p の断片を増幅する。増幅産物を X b a I 処理後、アガロースゲルで電気泳動することにより、可視化することができる。すなわち、I R 2 4 D N A からの増幅産物は X b a I の認識配列 (T C T A G A) をもたず、X b a I 処理により切断されないのに対し、日本晴

DNAからの増幅産物はXbaIの認識配列をもち、XbaI処理により切断されるため、XbaI処理後のDNA鎖長が異なり、アガロースゲル中の移動度の差異として検出することができる。

(9) PCRマーカーB53627 BstZ17Iの開発

- 5 実施例2で明らかにしたIR24コンティグに対応するゲノム塩基配列（配列番号27）と既述のBACクローン（アクセッション番号AC068923）の塩基配列とを比較した結果、配列番号27の69331番目の塩基がTであるのに対し、当該位置に対応するAC068923の塩基はCであることを見出した。

- 10 この差異の検出は、先ず次のプライマー対：

B53627 BstZ17I F：

5' - tggatggactatgtgggggtcagtc - 3' （配列番号55）

（配列番号27の塩基68965 - 68988に相当）

および

- 15 B53627 BstZ17I R：

5' - agtgggaagtggagagagtagggag - 3' （配列番号56）

（配列番号27の塩基69582 - 69559に相当）

を用いて当該部位周辺のPCR増幅を行い約620bpの断片を増幅する。

増幅産物をBstZ17I処理後、アガロースゲルで電気泳動することにより、

- 20 可視化することができる。すなわち、IR24DNAからの増幅産物はBstZ17Iの認識配列（GTATAC）をもち、XbaI処理により切断されるのに対し、日本晴DNAからの増幅産物はBstZ17Iの認識配列をもたず、BstZ17I処理により切断されないため、BstZ17I処理後のDNA鎖長が異なり、アガロースゲル中の移動度の差異として検出することができる。

- 25 (10) PCRマーカーB40936 MseIの開発

以下の(10) - (12)のPCRマーカーの開発はいずれも、配列番号27の3'末端76363よりもさらに下流（3'末端）側に相当する塩基配列についての研究に関する。

既述のBACクローン（アクセッション番号AC068923）の塩基配列に対して、次のプライマー対：

5' - tacgacgccatttcactccattgc - 3' （配列番号57）

および

5 5' - catttctctatgggcgttgctctg - 3' （配列番号58）

を設計した。このプライマー対を用いて、MS-FRコシヒカリ（Rf-1座の遺伝子型はRf-1 Rf-1）およびコシヒカリのトータルDNAをテンプレートに、定法に従いPCRを行った。得られた約1300bpの増幅産物を、アガロースゲルでの電気泳動後、QIAEXII（QIAGEN社）を用いて精製した。精製したDNAの塩基配列を、DNAシーケンサー377（ABI社）により解析した結果、数箇所において多型を見出すことができた。

そのひとつは、次のプライマー対：

B40936 MseI F：

5' - acctgtaggtaatggcaccttcaacac - 3' （配列番号59）

15 および

B40936 MseI R：

5' - ccaaggaacgaagtccaatgtatgg - 3' （配列番号60）

を用いて当該部位周辺のPCR増幅を行い、増幅産物をMseI処理後、アガロースゲルで電気泳動することにより、可視化することができる。すなわち、MS-FRコシヒカリ（Rf-1 Rf-1）DNAからの増幅産物はMseIの認識配列（TTAA）をもち、MseI処理により切断されるのに対し、コシヒカリDNAからの増幅産物はMseIの認識配列をもたず、MseI処理により切断されないため、MseI処理後のDNA鎖長が異なり、アガロースゲル中の移動度の差異として検出することができる。

25 なお、本マーカーの開発には、dCAPS法を適用した。

（11）PCRマーカーB19839 MwoIの開発

既述のBACクローン（アクセッション番号AC068923）の塩基配列に対して、次のプライマー対：

5' - tgatgtgtttgggcattccctttcg - 3' （配列番号61）

および

5' -gagataggggacgacagacacgac-3' (配列番号 62)

を設計した。このプライマー対を用いて、MS-FR コシヒカリ (Rf-1 Rf-1) およびコシヒカリのトータルDNAをテンプレートに、定法に従いPCRを行った。得られた約1200bpの増幅産物を、アガロースゲルでの電気泳動後、QIAEXII (QIAGEN社) を用いて精製した。精製したDNAの塩基配列を、DNAシーケンサー377 (ABI社) により解析した結果、数箇所において多型を見出すことができた。

そのひとつは、次のプライマー対：

10 B19839 MwoI F：

5' -tcctatggctgttttagaaactgcaca-3' (配列番号 63)

および

B19839 MwoI R：

5' -caagttcaaacataactggcgttg-3' (配列番号 64)

15 を用いて当該部位周辺のPCR増幅を行い、増幅産物をMwoI処理後、アガロースゲルで電気泳動することにより、可視化することができる。すなわち、MS-FR コシヒカリ (Rf-1 Rf-1) DNAからの増幅産物はMwoIの認識配列 (GCNNNNNNNGC) をもたず、MwoI処理により切断されないのに対し、コシヒカリDNAからの増幅産物はMwoIの認識配列をもち、MwoI処理により切断されるため、MwoI処理後のDNA鎖長が異なり、アガロースゲル中の移動度の差異として検出することができる。

なお、本マーカーの開発には、dCAPS法を適用した。

(12) PCRマーカーB2387 BfaI の開発

既述のBACクローン (アクセッション番号AC068923) の塩基配列に

25 対して、次のプライマー対：

5' -cactgtcctgtaagtgtgctgtgc-3' (配列番号 65)

および

5' -caagcgtgtgataaaatgtgacgc-3' (配列番号 66)

を設計した。このプライマー対を用いて、MS-FRコシヒカリ（Rf-1 Rf-1）およびコシヒカリのトータルDNAをテンプレートに、定法に従いPCRを行った。得られた約1300bpの増幅産物を、アガロースゲルでの電気泳動後、QIAEXII（QIAGEN社）を用いて精製した。精製したDNAの塩基配列を、DNAシーケンサー377（ABI社）により解析した結果、数箇所において多型を見出すことができた。

そのひとつは、次のプライマー対：

B2387 BfaI F：

5' - tgcctactgccattactatgtgac - 3' （配列番号67）

10 および

B2387 BfaI R：

5' - acatactaccgtaaatggctctctg - 3' （配列番号68）

を用いて当該部位周辺のPCR増幅を行い、増幅産物をBfaI処理後、アガロースゲルで電気泳動することにより、可視化することができる。すなわち、MS-FRコシヒカリ（Rf-1 Rf-1）DNAからの増幅産物はBfaIの認識配列（CTAG）をもたず、BfaI処理により切断されないのに対し、コシヒカリDNAからの増幅産物はBfaIの認識配列をもち、BfaI処理により切断されるため、BfaI処理後のDNA鎖長が異なり、アガロースゲル中の移動度の差異として検出することができる。

20 （13）分離分析

実施例1で得られた、Rf-1座とS12564 Tsp509I座との間での組換え個体2個体（RS1およびRS2）およびRf-1座とC1361 MwoI座との間での組換え個体8個体（RC1からRC8）について、上記

（1）ないし（12）で開発した12個のDNAマーカー座の遺伝子型を調査した。結果を、各個体のS12564 Tsp509I座およびC1361 MwoI座の遺伝子型とともに表4に示した。

表 4 *Rf-1* 座極近傍組換え個体のマーカー座遺伝子型

Locus	RS1	RS2	RC1	RC2	RC3	RC4	RC5	RC6	RC7	RC8
S12564 Tsp509I	J	J	H	H	H	H	H	H	H	H
P4497 MboI	J	J	H	H	H	H	H	H	H	H
P9493 BslI	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
P23945 MboI	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
P41030 TaqI	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
P45177 BstUI	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
B60304 MspI	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
B59066 BsaJI	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
B56691 XbaI	H	H	H	H	H	H	H	J	H	H
B53627 BstZ17I	H	H	H	H	H	H	H	J	H	H
B40936 MseI	H	H	H	H	H	H	H	J	H	H
B19839 MwoI	H	H	H	H	H	J	H	J	H	H
B2387 BfaI	H	H	H	H	H	J	H	J	H	J
C1361 MwoI	H	H	J	J	J	J	J	J	J	J

J コシヒカリ型ホモ
H コシヒカリ型/MS-FRコシヒカリ型ヘテロ

表 4 は、いずれの個体も P 9 4 9 3 B s l I ないし 5 9 0 6 6 B s a J I の間については、インディカ型品種由来の *Rf-1* 染色体領域を有することを示す。この結果から、図 3 で示したような染色体構成をもつ組換え型花粉において、花粉の受精能力があること、すなわち、*Rf-1* 遺伝子が機能していることが示された。これは、これらの組換え型花粉が共有するインディカ型領域、すなわち、最大限に見積もっても P 4 4 9 7 M b o I 座から B 5 6 6 9 1 X b a I 座までの領域（約 6 5 k b）に、*Rf-1* 遺伝子の機能の有無を決定する配列が含まれることを意味する。

ただし、*Rf-1* 遺伝子の一部の遺伝子型がインディカ型であることが、*Rf-1* 遺伝子の遺伝子機能発現に重要であり、残りの部分はジャポニカ型でもインディカ型でも遺伝子機能に大きな差異を生じない可能性がある。よって、上記共有インディカ型領域（配列番号 2 7 の塩基 1 2 3 9 ないし 6 6 2 6 7）が *Rf-1* 遺伝子全体を完全に包含するとは、断定できない。しかしながら、以下の理由、

1) 遺伝子の大きさは通常数 k b であり 1 0 k b を超えることは稀である；

2) 本発明で明らかにした I R 2 4 のゲノム塩基配列 (配列番号 2 7) は、上記共有インディカ型領域を完全に包含する；

3) 配列番号 2 7 の 5' 末端は、上記共有インディカ型領域の 5' 末端から 1 2 3 8 b p 上流に位置し、別の遺伝子 (S 1 2 5 6 4) の一部である；および

5 4) 配列番号 2 7 の 3' 末端は、上記共有インディカ型領域の 3' 末端から 1 0 0 9 6 b p 下流に位置する

により、少なくとも配列番号 2 7 は R f - 1 遺伝子全体を完全に包含すると考えられる。

実施例 4 X S E 1 由来の 9. 7 k b 断片に関する相補性試験

10 (材料および方法)

λファージクローン X S E 1 (図 1 および 5) を N o t I で完全消化し、アガロースゲルによる電気泳動を行った。分離された 9. 7 k b の断片 (配列番号 2 7 の塩基 1 - 9 6 5 7 を含む) を、Q I A E X I I (Q I A G E N 社) を用いて精製した。

15 一方、p S B 1 1 (K o m a r i ら、上述) を基に、ハイグロマイシン耐性遺伝子カセットを持つ中間ベクター p S B 2 0 0 を作成した。具体的には、先ず、ユビキチンプロモーターとユビキチンイントロン (P u b i - u b i I) に、ノパリン合成酵素のターミネーター (T n o s) を接続した。これより得られた P u b i - u b i I - T n o s 接続体の u b i I - T n o s 間に、ハイグロマイシン体制遺伝子 (H Y G (R)) を挿入することにより、P u b i - u b i I - H Y G (R) - T n o s からなる接続体を得た。この接続体を、p S B 1 1 の H i n d I I I / E c o R I 断片に接続することにより、p K Y 2 0 5 を得た。この p K Y 2 0 5 の P u b i 上流に存在する H i n d I I I 部位に N o t I、N s p V、E c o R V、K p n I、S a c I、E c o R I の制限酵素部位を追加するためのリンカー部位を挿入することにより、ハイグロマイシン耐性遺伝子カセットを有する p S B 2 0 0 を得た。

上記プラスミドベクター p S B 2 0 0 を N o t I で完全消化後、エタノール沈殿により DNA を回収した。回収した DNA を T E 溶液に溶解後、C I A P (T A K A R A 社) により脱リン酸化した。反応液をアガロースゲルによる電気泳動

にかけた後、Q I A E X I I (Q I A G E N 社) を用いてゲルからベクター断片を精製した。

上記により準備した、X S E 1 由来の 9. 7 k b 断片とベクター断片の二つの断片を供試して、DNA L i g a t i o n K i t V e r. 1 (T A K A
5 R A 社) を用いてライゲーション反応を行った。反応後、エタノール沈殿により DNA を回収した。回収した DNA を純水 (M i l l i p o r e 社製装置により作成) に溶解後、大腸菌 D H 5 α と混合し、エレクトロポレーションに供試した。エレクトロポレーション後の溶液を、L B 培地で振盪培養 (3 7 ° C、1 時間) した後、スペクチノマイシンを含む L B プレートに広げ、加温 (3 7 ° C、
10 1 6 時間) した。生じたコロニーのなかの 2 4 個についてプラスミドを単離した。その制限酵素断片長パターンおよび境界部塩基配列を調査することにより、組換えプラスミドにより形質転換された所望の大腸菌を選抜した。

上記により選抜した大腸菌を、A g r o b a c t e r i u m t u m e f a c i e n s 菌株 L B A 4 4 0 4 / p S B 1 (K o m a r i e t a l, 1 9 9
15 6) およびヘルパー大腸菌 H B 1 0 1 / p R K 2 0 1 3 (D i t t a e t a l, 1 9 8 0) とともに供試して、D i t t a e t a l (1 9 8 0) の方法に従い、三菌系交雑 (t r i p a r e n t i a l m a t i n g) を行った。スペクチノマイシンを含む A B プレートに生じたコロニーのなかの 6 個について、プラスミドを単離し、制限酵素断片長パターンを調査することにより、所
20 望のアグロバクテリウムを選抜した。

上記により選抜したアグロバクテリウムを用いて、H i e i e t a l (1 9 9 4) の方法に準拠し、M S コシヒカリ (B T 細胞質を持ち、核遺伝子はコシヒカリとほぼ同一) の形質転換を行った。形質転換に必要な M S コシヒカリの未熟種子は、M S コシヒカリにコシヒカリの花粉をかけることにより作成し
25 た。

形質転換植物は、馴化後、長日条件の温室に移した。移植適期まで育成した後、4 8 個体の植物を、1 / 5 0 0 0 アールのワグネルポットに移植し (4 個体 / ポット)、移植 3 ~ 4 週間後に短日条件の温室に移した。出穂約 1 か月後に、種子稔性を立毛調査した。

(結果および考察)

形質転換植物 48 個体は、いずれも不稔であった。このことから、導入した 9.7 kb 断片は、少なくとも完全長の Rf-1 遺伝子を包含していないと考えられた。

5 実施例 5 XSE7 由来の 14.7 kb 断片に関する相補性試験

(材料および方法)

10 λファージクローン XSE7 (図 1 および 5) を EcoRI で完全消化後、エタノール沈殿により DNA を回収した。回収した DNA を TE 溶液に溶解後、DNA Blunting Kit (TAKARA 社) により平滑化した。反応液をアガロースゲルによる電気泳動にかけ、分離された 14.7 kb の断片 (配列番号 27 の塩基 2618-17261 を含む) を、QIAEXII (QIAGEN 社) を用いて精製した。

15 一方、プラスミドベクター pSB200 を SacI で完全消化後、エタノール沈殿により DNA を回収した。回収した DNA を TE 溶液に溶解後、CIAP (TAKARA 社) により脱リン酸化し、エタノール沈殿により DNA を回収した。回収した DNA を TE 溶液に溶解後、DNA Blunting Kit (TAKARA 社) により平滑化した。反応液をアガロースゲルによる電気泳動にかけた後、QIAEXII (QIAGEN 社) を用いてゲルからベクター断片を精製した。

20 上記により準備した、XSE7 由来の 14.7 kb 断片とベクター断片の二つの断片を供試して、DNA Ligation Kit Ver. 1 (TAKARA 社) を用いてライゲーション反応を行った。以後、実施例 4 に記載の方法に準拠して、形質転換植物を作成・調査した。

(結果および考察)

25 形質転換植物 48 個体は、いずれも不稔であった。このことから、導入した 14.7 kb 断片は、少なくとも完全長の Rf-1 遺伝子を包含していないと考えられた。

実施例 6 XSF4 由来の 21.3 kb 断片に関する相補性試験

(材料および方法)

λファージクローンXSF4（図1および5）をNotIで部分消化し、アガロースゲルによる電気泳動を行った。分離された21.3kbの断片（配列番号27の塩基12478-33750を含む）を、QIAEXII（QIAGEN社）を用いて精製した。

- 5 一方、プラスミドベクターpSB200をNotIで完全消化後、エタノール沈殿によりDNAを回収した。回収したDNAをTE溶液に溶解後、CIAP（TAKARA社）により脱リン酸化した。反応液をアガロースゲルによる電気泳動にかけた後、QIAEXII（QIAGEN社）を用いてゲルからベクター断片を精製した。
- 10 上記により準備した、XSF4由来の21.3kbの断片とベクター断片の二つの断片を供試して、DNA Ligation Kit Ver. 1（TAKARA社）を用いてライゲーション反応を行った。以後、実施例4に記載の方法に準拠して、形質転換植物を作成・調査した。

（結果および考察）

- 15 形質転換植物48個体は、いずれも不稔であった。このことから、導入した21.3kb断片は、少なくとも完全長のRf-1遺伝子を包含していないと考えられた。

実施例7 XSF20由来の13.2kb断片に関する相補性試験

（材料および方法）

- 20 λファージクローンXSF20（図1及び5）をSalIで完全消化後、エタノール沈殿によりDNAを回収した。回収したDNAをTE溶液に溶解後、DNA Blunting Kit（TAKARA社）により平滑化した。反応液をアガロースゲルによる電気泳動にかけ、分離された13.2kbの断片（配列番号2の塩基26809-40055を含む）を、QIAEXII（QIAGEN社）を用いて精製した。
- 25

一方、プラスミドベクターpSB200をEcoRVで完全消化後、エタノール沈殿によりDNAを回収した。回収したDNAをTE溶液に溶解後、CIAP（TAKARA社）により脱リン酸化した。反応液をアガロースゲルによる電気

泳動にかけた後、Q I A E X I I (Q I A G E N社) を用いてゲルからベクター断片を精製した。

上記により準備した、X S F 2 0 由来の 1 3 . 2 k b の断片とベクター断片の二つの断片を供試して、DNA L i g a t i o n K i t V e r . 1 (T A K A R A 社) を用いてライゲーション反応を行った。以後、実施例 4 に記載の方法に準拠して、形質転換植物を作成・調査した。

(結果および考察)

形質転換植物 4 4 個体は、いずれも不稔であった。このことから、導入した 1 3 . 2 k b 断片は、少なくとも完全長の R f - 1 遺伝子を包含していないと考えられた。

実施例 8 X S F 1 8 由来の 1 6 . 2 k b 断片に関する相補性試験

(材料および方法)

λファージクローン X S F 1 8 は X S F 2 0 と 5 ' 末端及び 3 ' 末端 (各々、配列番号 2 7 の塩基 2 0 3 2 8 及び 4 1 9 2 1) と同一だが、途中の塩基 3 3 9 4 7 - 3 8 5 9 1 を欠いている。よって、配列番号 2 7 の塩基 2 0 3 2 8 - 3 3 9 4 6 及び 3 8 5 9 2 - 4 1 9 2 1 を含む。これは、最初にクローン X S F 1 8 が単離されたが、単離後の増殖の過程で上記欠失を生じたことが判明したため、再度増殖をやり直すことにより、完全型のクローンを単離し、X S F 2 0 と命名したことに因る。

λファージクローン X S F 1 8 (図 5) を N o t I で完全消化し、アガロースゲルによる電気泳動を行った。分離された 1 6 . 2 k b の断片 (配列番号 2 7 の塩基 2 1 0 6 5 - 3 3 9 4 6 及び 3 8 5 9 2 - 4 1 9 2 1 を含む) を、Q I A E X I I (Q I A G E N社) を用いて精製した。

一方、プラスミドベクター p S B 2 0 0 を N o t I で完全消化後、エタノール沈殿により DNA を回収した。回収した DNA を T E 溶液に溶解後、C I A P (T A K A R A 社) により脱リン酸化した。反応液をアガロースゲルによる電気泳動にかけた後、Q I A E X I I (Q I A G E N社) を用いてゲルからベクター断片を精製した。

上記により準備した、X S F 1 8 由来の 1 6 . 2 k b の断片とベクター断片の二つの断片を供試して、DNA L i g a t i o n K i t V e r . 1 (TAKARA 社) を用いてライゲーション反応を行った。以後、実施例 4 に記載の方法に準拠して、形質転換植物を作成・調査した。

5 (結果および考察)

形質転換植物 4 8 個体は、いずれも不稔であった(図 6)。このことから、導入した 1 6 . 2 k b 断片は、少なくとも完全長の R f - 1 遺伝子を包含していないと考えられた。

実施例 9 X S G 2 2 由来の 1 2 . 6 k b 断片に関する相補性試験

10 (材料および方法)

λファージクローン X S G 2 2 (図 1 および 5) を N o t I で部分消化し、アガロースゲルによる電気泳動を行った。分離された 1 2 . 6 k b の断片(配列番号 2 7 の塩基 3 1 6 8 4 - 4 4 1 0 9 を含む)を、Q I A E X I I (Q I A G E N 社) を用いて精製した。

15 一方、プラスミドベクター p S B 2 0 0 を N o t I で完全消化後、エタノール沈殿により DNA を回収した。回収した DNA を T E 溶液に溶解後、C I A P (TAKARA 社) により脱リン酸化した。反応液をアガロースゲルによる電気泳動にかけた後、Q I A E X I I (Q I A G E N 社) を用いてゲルからベクター断片を精製した。

20 上記により準備した、X S G 2 2 由来の 1 2 . 6 k b の断片とベクター断片の二つの断片を供試して、DNA L i g a t i o n K i t V e r . 1 (TAKARA 社) を用いてライゲーション反応を行った。以後、実施例 4 に記載の方法に準拠して、形質転換植物を作成・調査した。

(結果および考察)

25 形質転換植物 4 8 個体は、いずれも不稔であった。このことから、導入した 1 2 . 6 k b 断片は、少なくとも完全長の R f - 1 遺伝子を包含していないと考えられた。

実施例 1 0 X S G 1 6 由来の 1 5 . 7 k b 断片に関する相補性試験

(1)

(材料および方法)

λファージクローンXSG16 (図1および5) をNotIで部分消化し、アガロースゲルによる電気泳動を行った。分離された15.7 kbの断片 (配列番号27の塩基38538-54123を含む) を、QIAEXII (QIAGEN社) を用いて精製した。

一方、プラスミドベクターpSB200をNotIで完全消化後、エタノール沈殿によりDNAを回収した。回収したDNAをTE溶液に溶解後、CIAP (TAKARA社) により脱リン酸化した。反応液をアガロースゲルによる電気泳動にかけた後、QIAEXII (QIAGEN社) を用いてゲルからベクター断片を精製した。

上記により準備した、XSG16由来の15.7 kb断片とベクター断片の二つの断片を供試して、DNA Ligation Kit Ver. 1 (TAKARA社) を用いてライゲーション反応を行った。以後、実施例4に記載の方法に準拠して、形質転換植物を作成・調査した。

(結果および考察)

形質転換植物47個体のうち、少なくとも37個体は、明らかに稔性を回復していた (図6)。このことから、導入した15.7 kb断片のなかのイネ (IR24) に由来する部分である15586塩基 (配列番号27の塩基38538-54123) が、完全長のRf-1遺伝子を包含していると考えられた。

(2) XSG16内部の11.4 kb断片に関する相補性試験

(材料および方法)

λファージクローンXSG16をAlwNIおよびBsiWIで完全消化後、エタノール沈殿によりDNAを回収した。回収したDNAをTE溶液に溶解後、DNA Blunting Kit (TAKARA社) により平滑化した。反応液をアガロースゲルによる電気泳動にかけ、分離された11.4 kbの断片を、QIAEXII (QIAGEN社) を用いて精製した。

プラスミドベクターpSB11 (Komari et al. Plant Journal, 1996) をSmaIで完全消化後、エタノール沈殿によりDNAを回収した。回収したDNAをTE溶液に溶解後、CIAP (TAKARA

社)により脱リン酸化した。反応液をアガロースゲルによる電気泳動にかけた後、Q I A E X I I (Q I A G E N社)を用いてゲルからベクター断片を精製した。

上記により準備したふたつの断片を供試して、DNA L i g a t i o n K
 5 i t V e r . 1 (TAKARA社)を用いてライゲーション反応を行った。反応後、エタノール沈殿によりDNAを回収した。回収したDNAを純水 (M i l l i p o r e社製装置により作成)に溶解後、大腸菌DH5 α と混合し、エレクトロポレーションに供試した。エレクトロポレーション後の溶液を、LB培地で振とう培養 (37 $^{\circ}$ C、1時間)した後、スペクチノマイシンを含むLBプレートに広げ、加温 (37 $^{\circ}$ C、16時間)した。生じたコロニーのなかの14個
 10 について、プラスミドを単離し、制限酵素断片長パターンおよび境界部塩基配列を調査することにより、所望の大腸菌を選抜した。

上記により選抜した大腸菌を、A g r o b a c t e r i u m t u m e f a c i e n s 菌株LBA4404/pSB4U (高倉ら、特願2001-26998
 15 2 (WO02/019803 A1))およびヘルパー大腸菌HB101/pRK2013 (D i t t a e t a l , 1980)とともに供試して、D i t t a e t a l (1980)の方法に従い、三菌系交雑 (t r i p a r e n t i a l m a t i n g)を行った。スペクチノマイシンを含むABプレートに生じたコロニーのなかの12個について、プラスミドを単離し、制限酵素断片長
 20 パターンを調査することにより、所望のアグロバクテリウムを選抜した。

上記により選抜したアグロバクテリウムを用いて、H i e i e t a l (1994)の方法に準拠し、MSコシヒカリ (BT細胞質を持ち、核遺伝子はコシヒカリとほぼ同一)の形質転換を行った。形質転換に必要なMSコシヒカリの未熟種子は、MSコシヒカリにコシヒカリの花粉をかけることにより作成し
 25 た。

形質転換植物は、馴化後、長日条件の温室に移した。移植適期まで育成した後、120個体の植物を、1/5000アールのワグネルポットに移植し (4個体/ポット)、移植約1か月後に短日条件の温室に移した。出穂約1か月後に、

各個体から標準的な穂を1穂サンプリングし、種子稔性（総もみ数に対する稔実もみの割合）を調査した。

（結果および考察）

5 形質転換植物120個体のうち、59個体が10%以上の種子稔性を示し、そのうち19個体は70%以上の種子稔性を示した。このことから、導入した11.4 kb断片（配列番号27の42357番目の塩基から53743番目の塩基まで）が、稔性回復の機能を発現するうえで必須のRf-1遺伝子領域を包含していると考えられた。

（3） XSG16内部の6.8 kb断片に関する相補性試験

10 （材料および方法）

λファージクローンXSG16をHpaIおよびAlwNIで完全消化し、アガロースゲルによる電気泳動を行った。分離された6.8 kbの断片を、QIAEXII（QIAGEN社）を用いて精製した。

15 プラスミドベクターpSB11の調整を含め、以後の過程は上記（2）に記載の方法に準拠した。

（結果および考察）

20 形質転換植物120個体のうち、67個体が10%以上の種子稔性を示し、そのうち26個体は70%以上の種子稔性を示した。このことから、導入した6.8 kb断片（配列番号27の42132番目の塩基から48883番目の塩基まで）が、稔性回復の機能を発現するうえで必須のRf-1遺伝子領域を包含していると考えられた。

実施例11 XSG8由来の16.9 kb断片に関する相補性試験

（材料および方法）

25 λファージクローンXSG8（図1および5）をNotIで完全消化し、アガロースゲルによる電気泳動を行った。分離された16.9 kbの断片（配列番号27の塩基46558-63364を含む）を、QIAEXII（QIAGEN社）を用いて精製した。

一方、プラスミドベクターpSB200をNotIで完全消化後、エタノール沈殿によりDNAを回収した。回収したDNAをTE溶液に溶解後、CIAP

(TAKARA社)により脱リン酸化した。反応液をアガロースゲルによる電気泳動にかけた後、QIAEXII (QIAGEN社)を用いてゲルからベクター断片を精製した。

上記により準備した、XSG8由来の16.9 kb断片とベクター断片の二つの断片を供試して、DNA Ligation Kit Ver. 1 (TAKARA社)を用いてライゲーション反応を行った。以後、実施例4に記載の方法に準拠して、形質転換植物を作成・調査した。

(結果および考察)

形質転換植物48個体は、いずれも不稔であった。このことから、導入した16.9 kb断片は、少なくとも完全長のRf-1遺伝子を包含していないと考えられた。

実施例12 XSH18由来の20.0 kb断片に関する相補性試験

(材料および方法)

λファージクローンXSH18 (図1および5)をNotIで完全消化し、アガロースゲルによる電気泳動を行った。分離された20.0 kbの断片(配列番号27の塩基56409-76363を含む)を、QIAEXII (QIAGEN社)を用いて精製した。

一方、プラスミドベクターpSB200をNotIで完全消化後、エタノール沈殿によりDNAを回収した。回収したDNAをTE溶液に溶解後、CIAP (TAKARA社)により脱リン酸化した。反応液をアガロースゲルによる電気泳動にかけた後、QIAEXII (QIAGEN社)を用いてゲルからベクター断片を精製した。

上記により準備した、XSH18由来の20.0 kbの断片とベクター断片の二つの断片を供試して、DNA Ligation Kit Ver. 1 (TAKARA社)を用いてライゲーション反応を行った。以後、実施例4に記載の方法に準拠して、形質転換植物を作成・調査した。

(結果および考察)

形質転換植物 4 4 個体は、いずれも不稔であった。このことから、導入した 20.0 kb 断片は、少なくとも完全長の R f - 1 遺伝子を包含していないと考えられた。

実施例 1 3 X S G 8 および X S H 1 8 の重複部由来の 1 9 . 7 k b 断片に關

5 する相補性試験

(材料および方法)

実施例 1 1 におけるライゲーションによって得られた所望の大腸菌から単離したプラスミド (X S G 8 S B 2 0 0 . F) を、S a l I および S t u I で完全消化し、アガロースゲルによる電気泳動を行った。分離された 1 2 . 8 k b の断片

10 (配列番号 2 7 の塩基 5 0 4 3 0 - 6 3 1 9 7 を含む) を、Q I A E X I I (Q I A G E N 社) を用いて精製した。

一方、実施例 1 2 におけるライゲーションによって得られた所望の大腸菌から単離したプラスミド (X S H 1 8 S B 2 0 0 R) を、S a l I、S t u I および X h o I で完全消化し、アガロースゲルによる電気泳動を行った。分離された

15 6 . 9 k b 断片 (配列番号 2 7 の塩基 6 3 1 9 4 - 7 0 1 1 6 を含む) を、Q I A E X I I (Q I A G E N 社) を用いて精製した。

さらに、プラスミドベクター p S B 2 0 0 を E c o R V で完全消化後、エタノール沈殿により DNA を回収した。回収した DNA を T E 溶液に溶解後、C I A P (T A K A R A 社) により脱リン酸化した。反応液をアガロースゲルによる電気泳動にかけた後、Q I A E X I I (Q I A G E N 社) を用いてゲルからベクター断片を精製した。

上記により準備した、X S G 8 由来の 1 2 . 8 k b の断片、X S H 1 8 由来の 6 . 9 k b の断片、及びベクター断片の三個の断片を供試して、DNA L i g a t i o n K i t V e r . 1 (T A K A R A 社) を用いてライゲーション
25 反応を行った。ライゲーション産物は、X S G 8 および X S H 1 8 の重複部由来の 1 9 . 7 k b 断片 (配列番号 2 7 の 5 0 4 3 0 - 7 0 1 1 6 を含む) (図 5 の X S X 1) を含む。以後、実施例 4 に記載の方法に準拠して、形質転換植物を作成・調査した。

(結果および考察)

形質転換植物40個体は、いずれも不稔であった。このことから、導入した19.7 kb断片は、少なくとも完全長のRf-1遺伝子を包含していないと考えられた。

実施例14 cDNAライブラリーの作成

5 5 先ず、戻し交雑によりコシヒカリにRf-1を導入した系統IL216（遺伝子型はRf-1/Rf-1）を作成した。前記IL216を慣行法で温室栽培し、葉耳間長が-5~5 cmの生育段階で幼穂をサンプリングした。SDS-フェノール法（Watanabe, A. and Price, C. A. (1982) Translation of mRNAs for subunits of chloroplast coupling factor 1 in spinach. Proceedings of the National Academy of Sciences of the U. S. A., 79, 6304-6308）でトータルRNAを抽出した後、QuickPrep mRNA Purification Kit (Amersham Pharmacia Biotech) によりpoly(A)⁺ RNAを精製した。

次いで、精製したpoly(A)⁺ RNAを供試して、ZAP-cDNA Synthesis Kit (Stratagene) によりcDNAライブラリーを作成した。作成したライブラリー(1 ml)のタイターは16000000 pfu/mlと算出され、十分な大きさであると判断された。

実施例15 cDNAライブラリーのスクリーニング

(1) スクリーニング用プライマーの作成

以下の2種類のプライマー、
センスプライマー

25 5' -tctcattctctccacgccctgctc-3' (配列番号76)

アンチセンスプライマー

5' -acggcggagcaattcgctgaacac-3' (配列番号77)

を用いて、IR24のゲノミッククローンXSG16をテンプレートにPCRを行った。配列番号76及び77は各々、配列番号27の塩基43733-43756及び44038-44015に相当する。

電気泳動後、約300bpの増幅産物をQIAEX II Gel Extraction Kit (QIAGEN) によりアガロースゲルから回収した。回収した断片を、Rediprime II DNA labelling system (Amersham Pharmacia Biotech) を用いて³²P-ラベルした（以下、「プローブP」と呼称する）。

また、以下の2種類のプライマー、

10 センスプライマー

5' - agtgtgtggcatggtgcatttccg - 3' (配列番号78)

アンチセンスプライマー

5' - ctctacaggatacacggtgtaagg - 3' (配列番号79)

を用いて、IR24のゲノミッククローンXSG16をテンプレートにPCRを行った。配列番号78及び79は各々、配列番号27の塩基48306-48329及び50226-50203に相当する。電気泳動後、約1900bpの増幅産物を上述の方法によりアガロースゲルから回収した。回収した断片を、上述の方法で³²P-ラベルした（以下、「プローブQ」と呼称する）。

(2) cDNAライブラリーのスクリーニング

20 実施例14で作成したcDNAライブラリーを供試して、約15000プラークが出現した寒天培地を70枚作成した。各寒天培地について2回ずつプラークリフトを行い、Hybond-N⁺ (Amersham Pharmacia Biotech) に転写した。一方のメンブレンをプローブPとのハイブリダイゼーションに、もう一方のメンブレンをプローブQとのハイブリダイゼーションに用いた。一連の作業は、製造者の手引書に従って行った。

25 ハイブリダイゼーションは、250mM Na₂HPO₄、1mM EDTA および7% SDSを含むハイブリダイゼーション溶液にプローブを添加し、65℃で16時間行った。洗浄は、1×SSCおよび0.1% SDSを含む溶液により65℃、15分で2回行った後、0.1×SSCおよび0.1% SDS

を含む溶液により65℃、15分で2回行った。洗浄後のメンブレンをF U J I X B A S 1 0 0 0 (F u j i P h o t o F i l m s) で解析した。

その結果、プローブPおよびプローブQのどちらでも陽性を示すプラークが8個見出された。そこで、それらプラークを単離し、製造者 (S t r a t a g e n e) の手引書に従い p B l u e s c r i p t にサブクローニングした後、末端塩基配列を調査した。8個のクローンのうち、6個のクローンの末端塩基配列が X S G 1 6 の配列と一致した。それら6クローンの全塩基配列を決定し、結果を、配列表の配列番号69-74に示した。

配列番号69-74のいずれの配列も、配列番号75のアミノ酸配列1-791を持つタンパク質をコードすると推定される。具体的には、各々配列番号69の塩基215-2587、配列番号70の塩基213-2585、配列番号71の塩基218-2590、配列番号72の塩基208-2580、配列番号73の塩基149-2521及び配列番号74の塩基225-2597が、いずれも配列番号75のアミノ酸配列1-791をコードする。なお上記塩基配列は、配列番号27の塩基43907-46279に対応する。

配列番号75のアミノ酸配列を、トウモロコシの稔性回復遺伝子 (R f 2) の推定アミノ酸配列 (C u i e t a l. , 1996) と比較したところ、N末端の7アミノ酸残基 (M e t - A l a - A r g - A r g - A l a - A l a - S e r) が一致した。これら7アミノ酸残基はミトコンドリアへの標的化シグナルの一部と考えられている (L i u e t a l. , 2001)。これらのことから、今回単離したcDNAはRf-1遺伝子のコーディング領域を完全に包含すると考えられる。イネRf-1とトウモロコシRf2とのアミノ酸レベルでの相同性は、前述の領域を除いては見られない。遺伝子産物がミトコンドリアに移行してからの稔性回復機構は、両者で異なるものと推測される。

また、今回単離したcDNAの配列をIR24のゲノム配列 (配列番号27) と比較することにより、エキソンとイントロンの構造が明らかになった (図7)。その結果、植物体内において、スプライシング様式およびポリA付加位置を異にする種々の転写産物が混在していることが示された。

実施例16 相補性試験

実施例 10 (3) において、稔性回復能を持つことが証明された I R 2 4 由来の 6. 8 k b ゲノム断片を含むプラスミド中の、R f - 1 遺伝子のプロモーター領域と予想翻訳領域とを包含する 4. 2 k b 断片を用いて、相補性実験を行った。

5 先ず、上記実施例 10 (3) のプラスミドを E c o R I で処理し、アガロースゲルによる電気泳動を行った。R f - 1 のプロモーター領域と予想翻訳領域とを包含する 4. 2 k b 断片（配列番号 27 の塩基 4 2 1 3 2 - 4 6 3 1 8 に相当する）を分離し、Q I A E X I I (Q I A G E N) を用いてゲルから回収した。この 4. 2 k b 断片を、E c o R I 処理後 C I A P (T A K A R A) 処理した p B
10 l u e s c r i p t I I S K (-) とともに供試して、DNA L i g a t i o n K i t V e r . 1 (T A K A R A 社) を用いてライゲーション反応を行った。反応後、エタノール沈殿により DNA を回収した。

回収した DNA を純水 (M i l l i p o r e 社製装置により作成) に溶解後、大腸菌 D H 5 α と混合し、エレクトロポレーションに供試した。エレクトロポレーション後の溶液を、L B 培地で振とう培養 (37°C、1 時間) した後、アンピシリンを含む L B プレートに広げ、加温 (37°C、16 時間) した。生じたコロニーのなかの 12 個について、プラスミドを単離し、制限酵素断片長パターンおよび境界部塩基配列を調査することにより、所望の大腸菌を選抜した。つぎに、選抜した大腸菌から単離したプラスミドを、B a m H I および S a l I で処
20 理後、アガロースゲルによる電気泳動を行い、R f - 1 のプロモーター領域と予想翻訳領域とを包含する 4. 2 k b 断片を分離し、Q I A E X I I (Q I A G E N) を用いてゲルから回収した。

一方、T n o s J H 0 0 7 2 (n o s ターミネーターおよびアンピシリン耐性遺伝子カセットを持つ中間ベクター) を B a m H I および S a l I で処理後、ア
25 ガロースゲルによる電気泳動を行った。n o s ターミネーターおよびアンピシリン耐性遺伝子カセットとを包含する 3. 0 k b 断片を分離し、Q I A E X I I (Q I A G E N) を用いてゲルから回収した。

R f - 1 のプロモーター領域と予想翻訳領域とを包含する 4. 2 k b 断片及び T n o s J H 0 0 7 2 由来の断片を、前述の方法でライゲーション反応およびポ

レーションを行った。アンピシリンを含むLBプレートに広げ、加温（37°C、16時間）後、生じたコロニーのなかの12個について、プラスミドを単離し、制限酵素断片長パターンおよび境界部塩基配列を調査することにより、所望の大腸菌を選抜した。

5 さらに、上述のとおり選抜した大腸菌から単離したプラスミドを、SgfIで処理後、アガロースゲルによる電気泳動を行い、Rf-1のプロモーター領域と予想翻訳領域とを包含する4.2kb断片を分離し、QIAEXII（QIAGEN）を用いてゲルから回収した。この4.2kb断片を、PacI処理後CIAP（TAKARA）処理したpSB200Pac（ハイグロマイシン耐性遺伝子カセットを持つ中間ベクター）とともに供試して、前述の方法でライゲーション反応およびポレーションを行った。スペクチノマイシンを含むLBプレートに
10 広げ、加温（37°C、16時間）後、生じたコロニーのなかの16個について、プラスミドを単離し、制限酵素断片長パターンおよび境界部塩基配列を調査することにより、所望の大腸菌を選抜した。

15 以上の工程により、Rf-1のプロモーター領域とRf-1の予想翻訳領域を含む断片にnosターミネーターが接続されたキメラ遺伝子が、中間ベクター内に挿入された大腸菌が得られた。この大腸菌を、Agrobacterium tumefaciens 菌株LB4404/pSB1（Komari et al, 1996）およびヘルパー大腸菌HB101/pRK2013（Ditta et al, 1980）とともに供試して、Ditta et al
20 （1980）の方法に従いtriparential matingを行った。スペクチノマイシンを含むABプレートに生じたコロニーのなかの6個について、プラスミドを単離し、制限酵素断片長パターンを調査することにより、所望のアグロバクテリウムを選抜した。

25 上記により選抜したアグロバクテリウムを用いて、Hiei et al（1994）の方法に準拠し、MSコシヒカリ（BT細胞質を持ち、核遺伝子はコシヒカリとほぼ同一）の形質転換を行った。形質転換に必要なMSコシヒカリの未熟種子は、MSコシヒカリにコシヒカリの花粉をかけることにより作成した。

形質転換植物は、馴化後、長日条件の温室に移した。移植適期まで育成した後、32個体の植物を、1/5000アールのワグネルポットに移植し（4個体？ポット）、移植3～4週間後に短日条件の温室に移した。出穂約1か月後に、種子稔性を立毛調査した。その結果、32個体のうち28個体は、稔性を回復していることがわかった。

以上の結果から、予想翻訳領域を発現させることによりRf-1遺伝子の機能を付与できることが、実験的に証明された。

実施例17 cDNA単離

実施例15は、プローブPおよびプローブQによりIR24幼穂由来cDNAライブラリーをスクリーニングし、どちらのプローブでも陽性を示すプラークを単離・解析することにより、6個のcDNAを単離した。本実施例では、プローブPおよび下記のプローブRにより同様のスクリーニングを行うことにより、さらに6個のcDNAを単離した。詳細は、以下のとおりである。

まず、2種類のプライマー、

センスプライマー

5' - cagttgggttgaaacctaatactg - 3' (配列番号86)

アンチセンスプライマー

5' - cactaaaccgtagacgagaaagc - 3' (配列番号87)

を用いて、IR24のゲノミッククローンXSG16をテンプレートにPCRを行った。配列番号86および87は各々、配列番号27の塩基45522-45545及び45955-45932に相当する。

電気泳動後、約430bpの増幅産物をQIAEX II (QIAGEN)によりアガロースゲルから回収した。回収した断片を、Rediprime II DNA labelling system (Amersham Pharmacia Biotech)を用いて³²P-ラベルした（プローブR、図8）。

IR24幼穂由来cDNAライブラリーを供試して、約15000プラークが出現した寒天培地を20枚作成した。各寒天培地について2回ずつプラークリフトを行い、Hybond-N⁺ (Amersham Pharmacia Biotech)に転写した。一方のメンブレンを実施例15のプローブPとのハイ

ブリダイゼーションに、もう一方のメンブレンをプローブRとのハイブリダイゼーションに用いた。一連の作業は、製造者の手引書に従って行った。その結果、プローブPおよびプローブRのどちらでも陽性を示すプラークが12個見出された。

5 そこで、それらプラークを単離し、製造者（S t r a t a g e n e）の手引書に従い p B l u e s c r i p t にサブクローニングした後、末端塩基配列を調査した。12個のクローンのうち、6個のクローンの末端塩基配列が X S G 1 6 の配列と一致したため、それら6クローンの全塩基配列を決定した（#7-#12）。その結果を配列番号80-85に示す。

10 配列番号80-85のいずれの配列も、配列番号75のアミノ酸配列1-791を持つタンパク質をコードすると推定される。具体的には、各々配列番号80の塩基229-2601、配列番号81の塩基175-2547、配列番号82の塩基227-2599、配列番号83の塩基220-2592、配列番号84の塩基174-2546及び配列番号85の塩基90-2462が、いずれも配
15 列番号75のアミノ酸配列1-791をコードする。なお上記塩基配列は、配列番号27の塩基43907-46279に対応する。

今回単離したcDNAの配列をI R 2 4のゲノム配列（配列番号27）と比較することにより、エキソンとイントロンの構造が明らかになった（図8）。今回単離したcDNAのなかには、予想翻訳領域とは関係のないエキソンを含まず、
20 単一エキソンからなるものも3個存在した（#10-#12、配列番号83-85）。

請求の範囲

1. 配列番号 75 のアミノ酸配列、又は配列番号 75 のアミノ酸配列と少なくとも 70 % 同一のアミノ酸配列をコードする核酸であって、稔性回復機能を有する核酸をイネに導入することにより、イネの稔性を回復する方法。
2. 配列番号 75 のアミノ酸配列をコードする核酸をイネに導入することにより、イネの稔性を回復する、請求項 1 に記載の方法。
3. 配列番号 75 のアミノ酸配列、又は配列番号 75 のアミノ酸配列と少なくとも 70 % 同一のアミノ酸配列をコードする核酸が、以下の a) - p) の核酸から選択される、請求項 1 又は 2 に記載の方法：
- a) 配列番号 69 の塩基 215 - 2587 を含む核酸；
 - b) 配列番号 70 の塩基 213 - 2585 を含む核酸；
 - c) 配列番号 71 の塩基 218 - 2590 を含む核酸；
 - d) 配列番号 72 の塩基 208 - 2580 を含む核酸；
 - e) 配列番号 73 の塩基 149 - 2521 を含む核酸；
 - f) 配列番号 74 の塩基 225 - 2597 を含む核酸；
 - g) 配列番号 27 の塩基 43907 - 46279 を含む核酸；
 - h) 配列番号 80 の塩基 229 - 2601 を含む核酸；
 - i) 配列番号 81 の塩基 175 - 2547 を含む核酸；
 - j) 配列番号 82 の塩基 227 - 2599 を含む核酸；
 - k) 配列番号 83 の塩基 220 - 2592 を含む核酸；
 - l) 配列番号 84 の塩基 174 - 2546 を含む核酸；
 - m) 配列番号 85 の塩基 90 - 2462 を含む核酸；
 - n) 上記 a) - m) のいずれかの核酸と少なくとも 70 % 同一であり、かつ、稔性回復機能を有する核酸；
 - o) 上記 a) - m) のいずれかの核酸と中程度又は高程度のストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、稔性回復機能を有する核酸；及び

p) 上記 a) - m) のいずれかの核酸に 1 ないし複数の塩基が欠失、挿入又は置換しており、かつ、稔性回復機能を有する核酸。

4. 配列番号 75 のアミノ酸配列、又は配列番号 75 のアミノ酸配列と少なくとも 70% 同一のアミノ酸配列をコードする核酸であって、稔性回復機能を有する核酸が、以下の条件 1) - 12) の少なくとも一つを満たす、請求項 3 に記載の方法：

- 1) 配列番号 69 の塩基 1769 に相当する塩基が A である；
- 2) 配列番号 70 の塩基 1767 に相当する塩基が A である；
- 3) 配列番号 71 の塩基 1772 に相当する塩基が A である；
- 10 4) 配列番号 72 の塩基 1762 に相当する塩基が A である；
- 5) 配列番号 73 の塩基 1703 に相当する塩基が A である；
- 6) 配列番号 74 の塩基 1779 に相当する塩基が A である；
- 7) 配列番号 80 の塩基 1783 に相当する塩基が A である；
- 8) 配列番号 81 の塩基 1729 に相当する塩基が A である；
- 15 9) 配列番号 82 の塩基 1781 に相当する塩基が A である；
- 10) 配列番号 83 の塩基 1774 に相当する塩基が A である；
- 11) 配列番号 84 の塩基 1728 に相当する塩基が A である；又は
- 12) 配列番号 85 の塩基 1644 に相当する塩基が A である。

5. 配列番号 75 のアミノ酸配列、又は配列番号 75 のアミノ酸配列と少なくとも 70% 同一のアミノ酸配列をコードする核酸であって、稔性回復機能を有する核酸を利用して被検定イネ個体又は種子が稔性回復遺伝子 (Rf-1 遺伝子) を有するか否かを識別する方法。

6. 以下の a) - p) の核酸：

- a) 配列番号 69 の塩基 215 - 2587 を含む核酸；
- 25 b) 配列番号 70 の塩基 213 - 2585 を含む核酸；
- c) 配列番号 71 の塩基 218 - 2590 を含む核酸；
- d) 配列番号 72 の塩基 208 - 2580 を含む核酸；
- e) 配列番号 73 の塩基 149 - 2521 を含む核酸；
- f) 配列番号 74 の塩基 225 - 2597 を含む核酸；

- g) 配列番号 27 の塩基 43907-46279 を含む核酸 ;
- h) 配列番号 80 の塩基 229-2601 を含む核酸 ;
- i) 配列番号 81 の塩基 175-2547 を含む核酸 ;
- j) 配列番号 82 の塩基 227-2599 を含む核酸 ;
- 5 k) 配列番号 83 の塩基 220-2592 を含む核酸 ;
- l) 配列番号 84 の塩基 174-2546 を含む核酸 ;
- m) 配列番号 85 の塩基 90-2462 を含む核酸 ;
- n) 上記 a) - m) のいずれかの核酸と少なくとも 70 % 同一であり、かつ、稔性回復機能を有する核酸 ;
- 10 o) 上記 a) - m) のいずれかの核酸と中程度又は高程度のス 트리 ン ジ ェ ン ト な 条 件 下 で ハイ ブ リ ダ イ ズ し、かつ、稔性回復機能を有する核酸 ; 及び
- p) 上記 a) - m) のいずれかの核酸に 1 ないし複数の塩基が欠失、挿入又は置換しており、かつ、稔性回復機能を有する核酸
- 15 のいずれかを利用する、請求項 5 に記載の方法。
7. 配列番号 75 のアミノ酸配列、又は配列番号 75 のアミノ酸配列と少なくとも 70 % 同一のアミノ酸配列をコードする核酸であって、稔性回復機能を有する核酸が、以下の条件 1) - 12) の少なくとも一つを満たす場合に被検定イネ個体又は種子が R f - 1 遺伝子を有すると判断する、請求項 5 又は 6 に記載の方法 :
- 20 1) 配列番号 69 の塩基 1769 に相当する塩基が A である ;
- 2) 配列番号 70 の塩基 1767 に相当する塩基が A である ;
- 3) 配列番号 71 の塩基 1772 に相当する塩基が A である ;
- 4) 配列番号 72 の塩基 1762 に相当する塩基が A である ;
- 25 5) 配列番号 73 の塩基 1703 に相当する塩基が A である ; は
- 6) 配列番号 74 の塩基 1779 に相当する塩基が A である ;
- 7) 配列番号 80 の塩基 1783 に相当する塩基が A である ;
- 8) 配列番号 81 の塩基 1729 に相当する塩基が A である ;
- 9) 配列番号 82 の塩基 1781 に相当する塩基が A である ;

- 1 0) 配列番号 8 3 の塩基 1 7 7 4 に相当する塩基が A である ;
- 1 1) 配列番号 8 4 の塩基 1 7 2 8 に相当する塩基が A である ; 又は
- 1 2) 配列番号 8 5 の塩基 1 6 4 4 に相当する塩基が A である。

8. i) 以下のいずれかの塩基、

- 5 1) 配列番号 6 9 の塩基 1 7 6 9 に相当する塩基 ;
- 2) 配列番号 7 0 の塩基 1 7 6 7 に相当する塩基 ;
- 3) 配列番号 7 1 の塩基 1 7 7 2 に相当する塩基 ;
- 4) 配列番号 7 2 の塩基 1 7 6 2 に相当する塩基 ;
- 5) 配列番号 7 3 の塩基 1 7 0 3 に相当する塩基 ;
- 10 6) 配列番号 7 4 の塩基 1 7 7 9 に相当する塩基 ;
- 7) 配列番号 8 0 の塩基 1 7 8 3 に相当する塩基 ;
- 8) 配列番号 8 1 の塩基 1 7 2 9 に相当する塩基 ;
- 9) 配列番号 8 2 の塩基 1 7 8 1 に相当する塩基 ;
- 1 0) 配列番号 8 3 の塩基 1 7 7 4 に相当する塩基 ;
- 15 1 1) 配列番号 8 4 の塩基 1 7 2 8 に相当する塩基 ; 及び
- 1 2) 配列番号 8 5 の塩基 1 6 4 4 に相当する塩基

を含む隣接領域の塩基配列に基づいて、上記塩基と隣接領域の双方を増幅するようにプライマー対を作成し ;

- 20 i i) 被検定イネ個体又は種子のゲノム DNA を鋳型として核酸増幅反応を行い ; そして

i i i) 前記核酸増幅産物に見出される多型に基づいて被検定イネ個体又は種子が R f - 1 遺伝子の有無を識別する、請求項 6 又は 7 に記載の方法。

- 9. 工程 i i i) が、以下の条件 1) - 1 2) の少なくとも一つを満たす場合に被検定イネ個体又は種子が R f - 1 遺伝子を有すると判断する、請求項 8 に記載の方法 :
- 25

1) 配列番号 6 9 の塩基 1 7 6 9 に相当する塩基を含む領域が、T a q I 認識配列を有しない ;

2) 配列番号 7 0 の塩基 1 7 6 7 に相当する塩基を含む領域が、T a q I 認識配列を有しない ;

3) 配列番号 7 1 の塩基 1 7 7 2 に相当する塩基を含む領域が、T a q I 認識配列を有しない；

4) 配列番号 7 2 の塩基 1 7 6 2 に相当する塩基を含む領域が、T a q I 認識配列を有しない；

5 5) 配列番号 7 3 の塩基 1 7 0 3 に相当する塩基を含む領域が、T a q I 認識配列を有しない；

6) 配列番号 7 4 の塩基 1 7 7 9 に相当する塩基を含む領域が、T a q I 認識配列を有しない；

10 7) 配列番号 8 0 の塩基 1 7 8 3 に相当する塩基を含む領域が、T a q I 認識配列を有しない；

8) 配列番号 8 1 の塩基 1 7 2 9 に相当する塩基を含む領域が、T a q I 認識配列を有しない；

9) 配列番号 8 2 の塩基 1 7 8 1 に相当する塩基を含む領域が、T a q I 認識配列を有しない；

15 10) 配列番号 8 3 の塩基 1 7 7 4 に相当する塩基を含む領域が、T a q I 認識配列を有しない；

11) 配列番号 8 4 の塩基 1 7 2 8 に相当する塩基を含む領域が、T a q I 認識配列を有しない；又は

20 12) 配列番号 8 5 の塩基 1 6 4 4 に相当する塩基を含む領域が、T a q I 認識配列を有しない。

10. 配列番号 7 5 のアミノ酸配列、又は配列番号 7 5 のアミノ酸配列と少なくとも 7 0 % 同一のアミノ酸配列をコードする核酸であって、稔性回復機能を有する核酸、に対し相補的な塩基配列から選択される、連続した少なくとも 1 0 0 塩基の長さのアンチセンスを導入することにより、R f - 1 遺伝子の稔性回復機能を抑制する方法。

11. 配列番号 7 5 のアミノ酸配列、又は配列番号 7 5 のアミノ酸配列と少なくとも 7 0 % 同一のアミノ酸配列をコードする核酸が、以下の a) - p) の核酸から選択される、請求項 10 に記載の方法：

a) 配列番号 6 9 の塩基 2 1 5 - 2 5 8 7 を含む核酸；

- b) 配列番号 7 0 の塩基 2 1 3 - 2 5 8 5 を含む核酸 ;
- c) 配列番号 7 1 の塩基 2 1 8 - 2 5 9 0 を含む核酸 ;
- d) 配列番号 7 2 の塩基 2 0 8 - 2 5 8 0 を含む核酸 ;
- e) 配列番号 7 3 の塩基 1 4 9 - 2 5 2 1 を含む核酸 ;
- 5 f) 配列番号 7 4 の塩基 2 2 5 - 2 5 9 7 を含む核酸 ;
- g) 配列番号 2 7 の塩基 4 3 9 0 7 - 4 6 2 7 9 を含む核酸 ;
- h) 配列番号 8 0 の塩基 2 2 9 - 2 6 0 1 を含む核酸 ;
- i) 配列番号 8 1 の塩基 1 7 5 - 2 5 4 7 を含む核酸 ;
- j) 配列番号 8 2 の塩基 2 2 7 - 2 5 9 9 を含む核酸 ;
- 10 k) 配列番号 8 3 の塩基 2 2 0 - 2 5 9 2 を含む核酸 ;
- l) 配列番号 8 4 の塩基 1 7 4 - 2 5 4 6 を含む核酸 ;
- m) 配列番号 8 5 の塩基 9 0 - 2 4 6 2 を含む核酸 ;
- n) 上記 a) - m) のいずれかの核酸と少なくとも 7 0 % 同一であり、かつ、稔性回復機能を有する核酸 ;
- 15 o) 上記 a) - m) のいずれかの核酸と中程度又は高程度のス 트리 ン ジェ ン ト な条件下でハイブリダイズし、かつ、稔性回復機能を有する核酸 ; 及び
- p) 上記 a) - m) のいずれかの核酸に 1 ないし複数の塩基が欠失、挿入又は置換しており、かつ、稔性回復機能を有する核酸。
- 1 2. 配列番号 7 5 のアミノ酸配列、又は配列番号 7 5 のアミノ酸配列と少なくとも 7 0 % 同一のアミノ酸配列をコードする核酸であって、稔性回復機能を有する核酸。
- 20 1 3. 以下の a) - p) の核酸から選択される、請求項 1 1 に記載の核酸 :
- a) 配列番号 6 9 の塩基 2 1 5 - 2 5 8 7 を含む核酸 ;
- b) 配列番号 7 0 の塩基 2 1 3 - 2 5 8 5 を含む核酸 ;
- 25 c) 配列番号 7 1 の塩基 2 1 8 - 2 5 9 0 を含む核酸 ;
- d) 配列番号 7 2 の塩基 2 0 8 - 2 5 8 0 を含む核酸 ;
- e) 配列番号 7 3 の塩基 1 4 9 - 2 5 2 1 を含む核酸 ;
- f) 配列番号 7 4 の塩基 2 2 5 - 2 5 9 7 を含む核酸 ;
- g) 配列番号 2 7 の塩基 4 3 9 0 7 - 4 6 2 7 9 を含む核酸 ;

- h) 配列番号 8 0 の塩基 2 2 9 - 2 6 0 1 を含む核酸 ;
- i) 配列番号 8 1 の塩基 1 7 5 - 2 5 4 7 を含む核酸 ;
- j) 配列番号 8 2 の塩基 2 2 7 - 2 5 9 9 を含む核酸 ;
- k) 配列番号 8 3 の塩基 2 2 0 - 2 5 9 2 を含む核酸 ;
- 5 l) 配列番号 8 4 の塩基 1 7 4 - 2 5 4 6 を含む核酸 ;
- m) 配列番号 8 5 の塩基 9 0 - 2 4 6 2 を含む核酸 ;
- n) 上記 a) - m) のいずれかの核酸と少なくとも 7 0 % 同一であり、かつ、稔性回復機能を有する核酸 ;
- o) 上記 a) - m) のいずれかの核酸と中程度又は高程度のス 트리 ン ジ ェ ン
- 10 ト な 条 件 下 で ハ イ ブ リ ダ イ ズ し、かつ、稔性回復機能を有する核酸 ; 及び
- p) 上記 a) - m) のいずれかの核酸に 1 ないし複数の塩基が欠失、挿入又は置換しており、かつ、稔性回復機能を有する核酸。

1

RFLP Probe (S12564)



Probe A ■

Probe E ■

Probe F ■

Probe G ■

Probe H ■

WSA 1

WSA 3

WSE 8

WSF 5

WSF 7

WSG 6

WSG 2

(1) あそみのり

XSE 1

12481

XSE 7

2618

17261

XSF 4

12478

33750

XSF 20

20328

41921

XSG 22

31684

48847

XSG 16

38538

54123

XSG 8

46538

63364

XSH 18

56409

76363

(2) IR24

図 2

あそみのリコンテイング



IR24コンテイング



AC068923

図 3

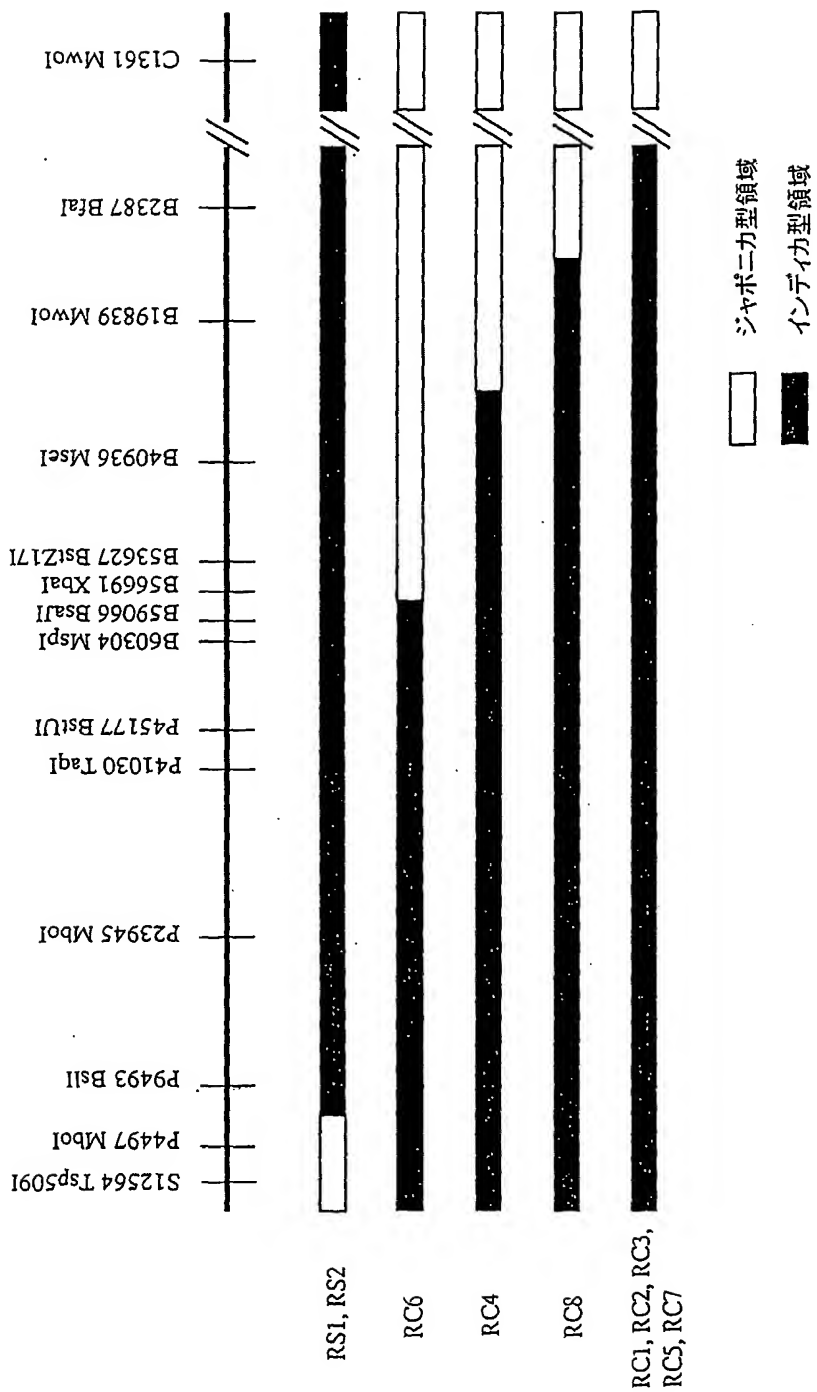
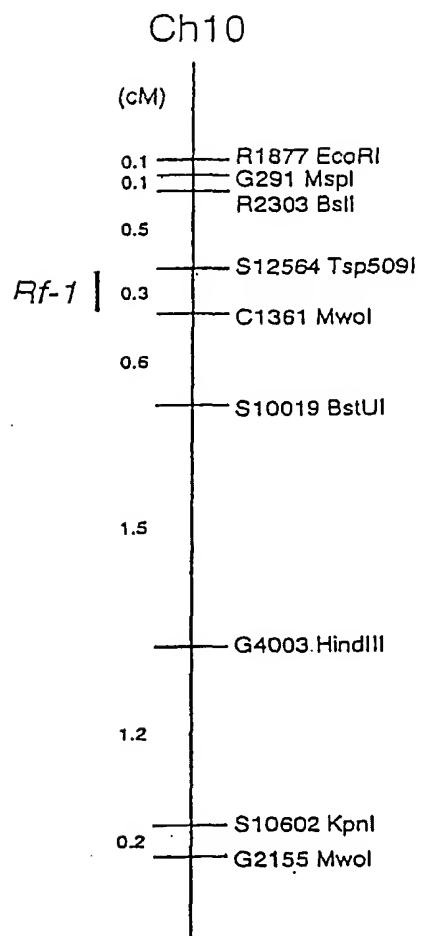


図4



5

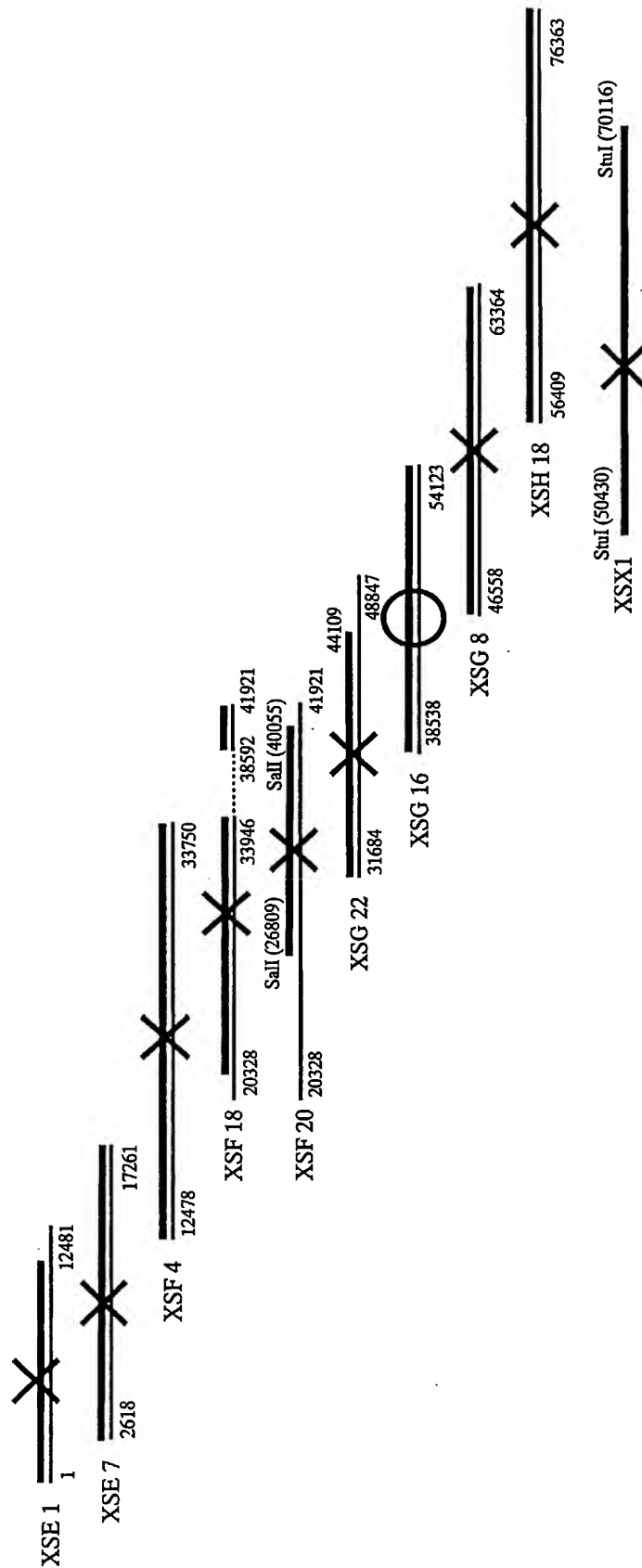


図 6

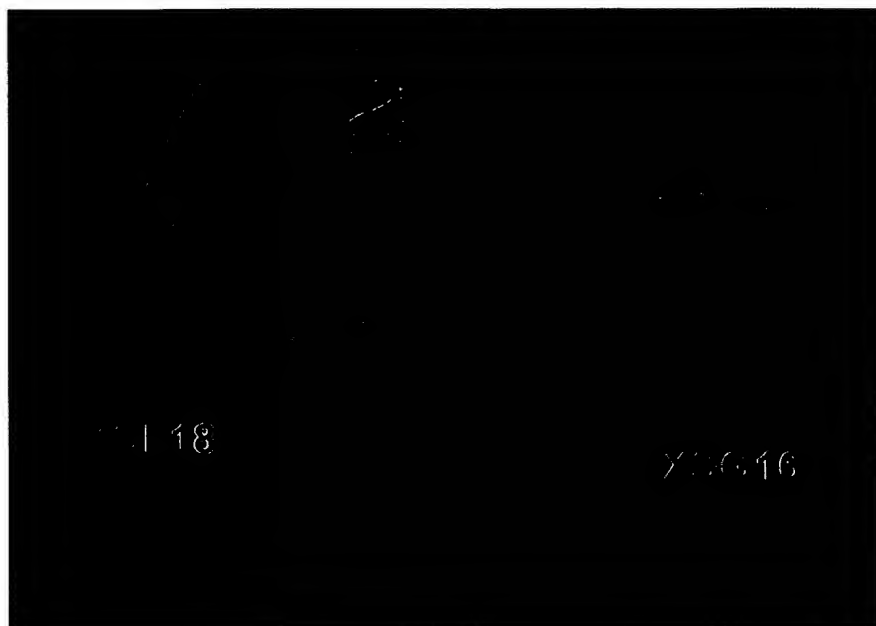
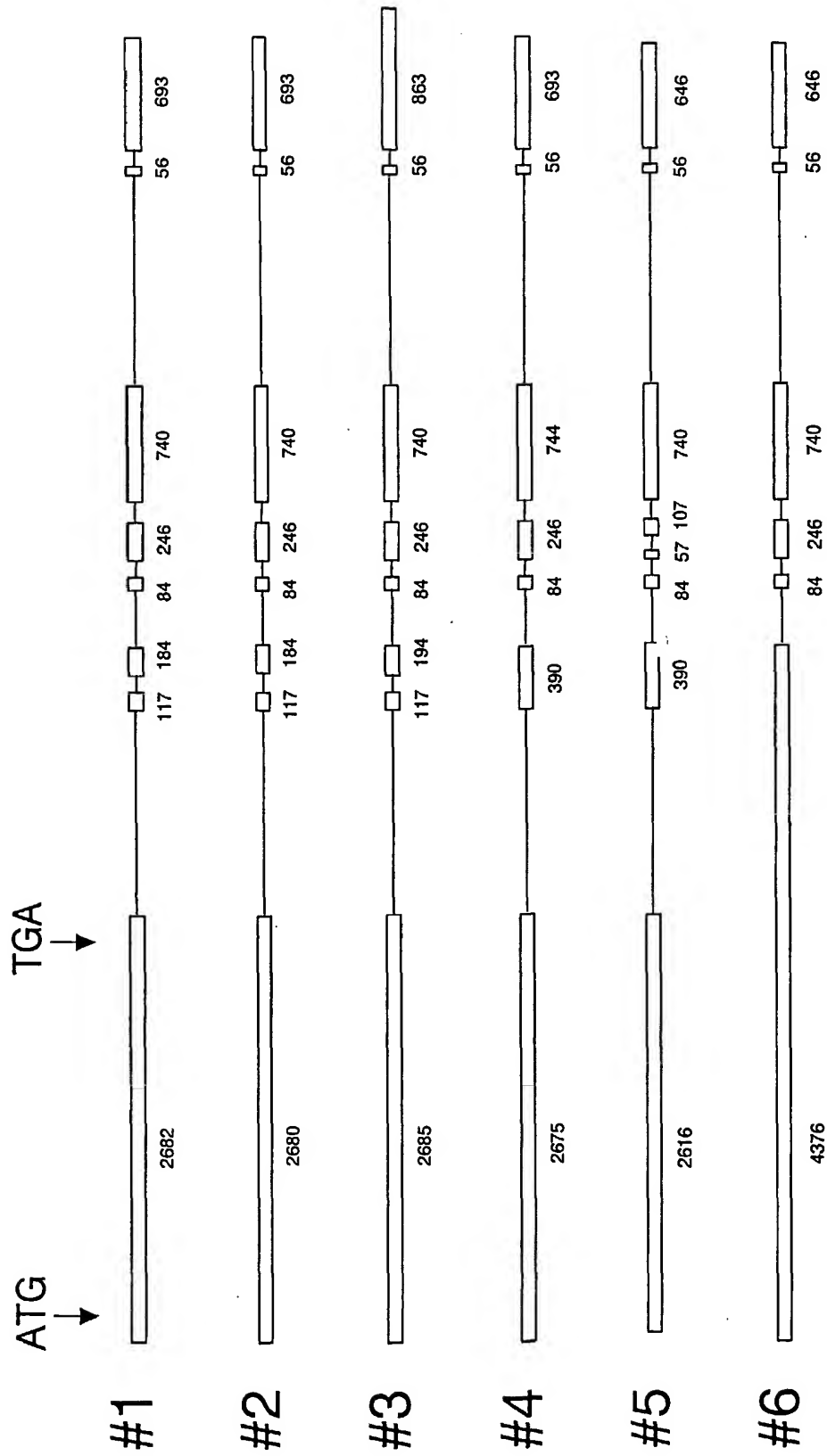
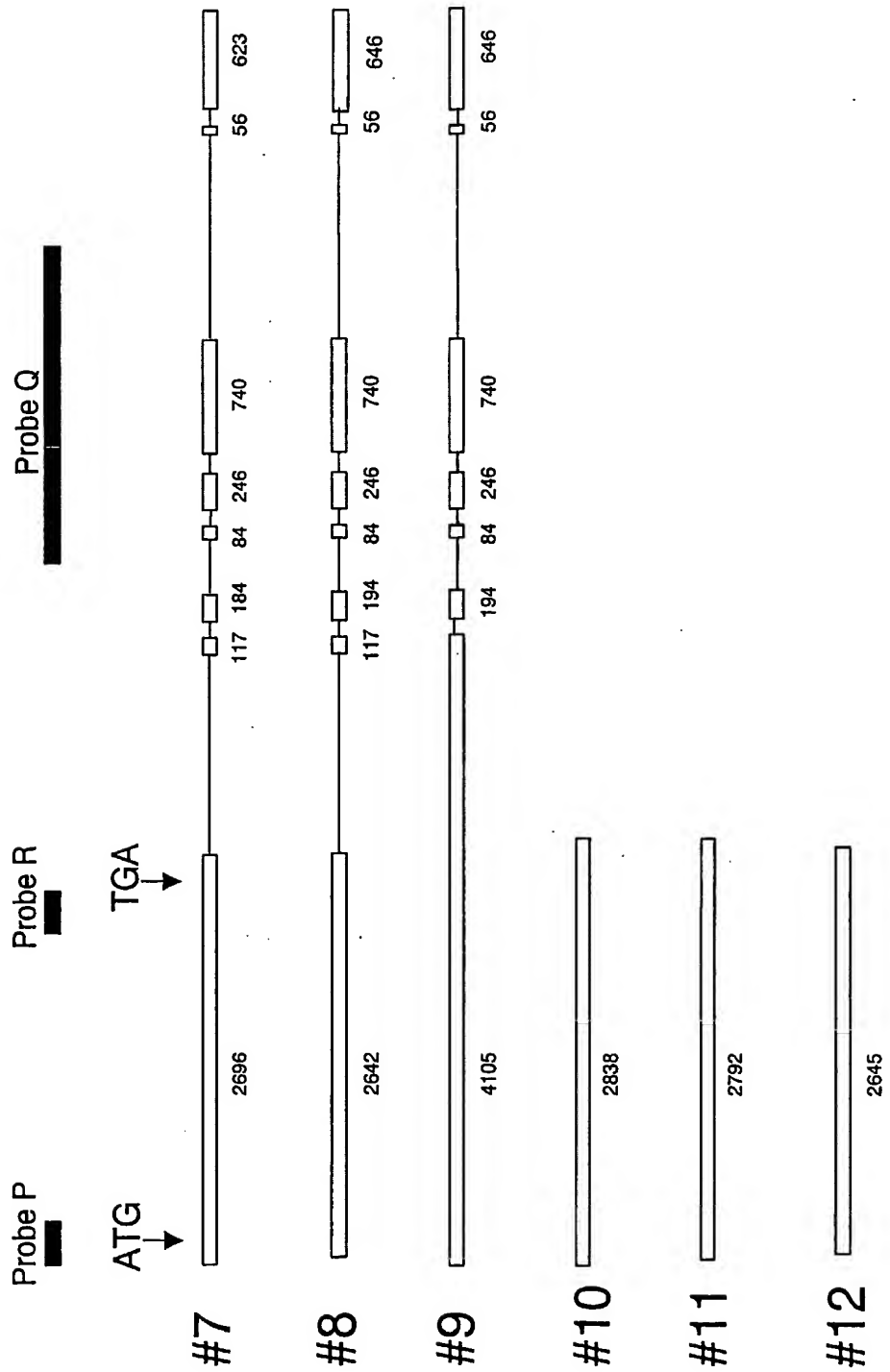


図 7



8

4.2kb genomic fragment of IR24



SEQUENCE LISTING

<110> JAPAN TOBACCO INC.

Syngenta Limited

<120> The rice restorer gene to the rice BT type cytoplasmic male sterility.

<130> YCT811

<150> JP 2002-197560

<151> 2002-07-05

<160> 87

<210> 1

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification of R1877 EcoRI marker sequence.

<400> 1

cattcctgct tccatggaaa cgtc 24

<210> 2

<211> 33

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification of R1877 EcoRI marker

sequence.

<400> 2

ctctttctgt atacttgagc ttgacatct gac 33

<210> 3

<211> 20

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification of G4003 HindIII marker sequence.

<400> 3

gatcgacgag tacctgaacg 20

<210> 4

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification of G4003 HindIII marker sequence.

<400> 4

aatagttgga ttgtcctcaa aggg 24

<210> 5

<211> 27

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification of C1361 MwoI marker sequence.

<400> 5

aaagcaaccg acttcagtgg catcacc 27

<210> 6

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> · Oligonucleotide primer for amplification of C1361 MwoI marker sequence.

<400> 6

ctggacttca tticcctgca gagc 24

<210> 7

<211> 27

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification of G2155 MwoI marker sequence.

<400> 7

gaccaccaat taactgatta agctggc 27

<210> 8

<211> 27

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification of G2155 MwoI marker sequence.

<400> 8

tttctggctc caataatcag ctgtagc 27

<210> 9`

<211> 27

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification of G291 MspI marker sequence.

<400> 9

ctgctgcagc aagctgcacc gaaccgg 27

<210> 10

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification of G291 MspI marker sequence.

<400> 10

acattttttc ttccgaaact tccg 24

<210> 11

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification of R2303 BslI marker sequence.

<400> 11

atggaaagat acactagaat gagc 24

<210> 12

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification of R2303 BslI marker sequence.

<400> 12

atcittatata gtggcaggaa agcc 24

<210> 13

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification of S10019 BstUI marker sequence.

<400> 13

aacaatctta tcctgcacag actg 24

<210> 14

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification of S10019 BstUI marker sequence.

<400> 14

gtcacataga agcagatggg ttcc 24

<210> 15

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification of S10602 KpnI marker sequence.

<400> 15

agctgttgag agttctatgc cacc 24

<210> 16

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification of S10602 KpnI marker sequence.

<400> 16

tagccatgca acaagatgtc atac 24

<210> 17

<211> 26

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification of S12564 Tsp509I marker sequence.

<400> 17

ctagttagac cgaataactg aggttc 26

<210> 18

<211> 27

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification of S12564 Tsp509I marker sequence.

<400> 18

tttgtgggtt tgtggcattg agaaaat 27

<210> 19

<211> 2240

<212> DNA

<213> Oryza sativa L.

<223> PCR marker G4003 HindIII

<400> 19

gcggccgctc cggaagtcg agcgagtaga cgccccctgac gccgtacgcg tcggcgagcc 60
gcagcggcgt ctctggcgt gtgaaggaca gcccgttcag cgtcgcgcgg cgccgcccgt 120
tgatcgtcac cggcgccgtg ctccgcagca ggtacgcctg cgtcacgttg atcgacgagt 180
acctgaacga tccctgtggg ttcggcctcg ccgctccggc actcaggttc cacctgcccc 240

atgcaaaaaa ccaaaaccca aaagcttaat gcgaataata catcattcca cgtattttaa 300
 aaaataatit ataggtaaaa tttttataat gtatttttagc gacgtaaaatg tcaatgctga 360
 gaaataaacg ataatacttt aaatgaagtt ctaaaattta aattttggca tcggttgatg 420
 ttggataaag aaaacgatgg aggctagtaa tttttcttct tttttaagta tctagattgt 480
 catatatiga atttttcagt ttttcatccc tttagaggaca atccaactat tattttcctt 540
 ttcttaigta aaagggtgaa caacataatc aaacataaaa aaataaaaatt aaatgaaata 600
 aattttacaat tcataaaaatt tacagaattt atgttaagaa aatattcaaa cttagataat 660
 aataaagcaa caaaatcgta ctaaaaagaa gtataattgt acattgtata ctactactcc 720
 tacaatttta gacttagaat ttttaatttc ctgaaatcta gtaatgcat tttttcttt 780
 ctagttgaac cagacagtaa gtttaactcg aaacttataa gctaatgagc gaagtcgggc 840
 aattcactcg tacctgacgg agcgagcttg gticattggag aaggacttgt cgaactggtc 900
 ctggggaggg tcggggagcg ggccggaggc ccgccccggg gagtggagt agcggaggac 960
 ggcgacgccg gcgacgcggc gccacacggt gtcgttcacc atgcgcgcgc tggcgacgac 1020
 gtagtagtcg gagctcgcgt tctggtcggt ggtgacgagg aaggagtagg actggccgac 1080
 gtggacgtcc aggttgggtg agttctgtcg cgtcgtgtag gagccctccg tctccaccag 1140
 caccatgttg tgcccctgga tccitgaagtt gaggcctgct gacgtcccca cgttgtgcac 1200
 tcggatcctg tacgtcttgc ctgtgtcccc acaccgacgt cgccgacaca cgcgcaaaag 1260
 ataatagact cattgtaagt aggtagtaac cttctccgtt tcataattata aatcgtttga 1320
 ttataatitit gttagttaaa cttctttaag ttttttttct ataaacttaa ttaaacttaa 1380
 agaattitaa taaaaaaaaat caaacgactt ataataataa atggatggag tagttgcac 1440
 aatttgtgga tgaagcaaac aagattatat cttttcatg agggtgaaag tattcagtga 1500
 acaattcgct agtttcaagt ttcattgaaat cggacagggt ctctgaaagt ctgtattttt 1560
 ggtactgttg gattgactac tctggcttct gttgtcacat cttttgtatc ctagtttcgg 1620
 taaaaaaaaat ttggcatit ttactcctat cgttgatctg ttttaactgaa accattgcat 1680
 gatatactac tagcagacaa aactggtgaa aattcacgag aatgaacttt ttgtcagtta 1740
 agcattagcg gacagcttca gtaagcagag caggctgcct taaggcttaa agcactatct 1800
 tccacaacac ttgttcctac aatcaaattc caaatttact atcacaaaa gcgaaggaac 1860
 taactaaacc ttactcctac tagtactact gctatgacta tgaacaaga ttccaatcca 1920
 aagaaaacac agtgctcgat cagcatgata aaagcaacga aacctgctca tccagctgcc 1980

```

aaaatgccac cccactgact ctacgtacgt actacgtatt gacgctgtaa aaaactagcc 2040
gtagiacaga gaagaggacc caaagtttcg tcaaaaattt tattttaccc ggatccacat 2100
tgatggcttc gtactcgatg ccggccggga caaggctgtc gttgtacctg tacgggccct 2160
tgccgttaat cagcacgccg tccggcatcc cgaggctcct gccactgtcc agcatcttcc 2220
tcagatcctg caacgaattc                                     2240

```

<210> 20

<211> 2601

<212> DNA

<213> *Oryza sativa* L.

<223> PCR marker C1361 MwoI

<400> 20

```

tcttgcigag atccaagttg cggtaacttt gcccttttct tttttcttc tcttctgaat 60
tttttcatgg tttttgggag agattttcgt aacttgattt cagtcttagg aaaaggccac 120
cttgttcaaa cagggtcttc ttgaaaggga tcaatttgct aggagtacat gattctaaaa 180
gcgatttcga aataaaacac agttctcgat ctcatacctg aaaacaaaag gcccatactg 240
tgtaaactgt gattatgctt ctgttaaatg ggatatttgt acaaaattga cgccaaccac 300
ctataaacag attgtgagct tttatcttag taaaataaaa tgtgacattc tactcagtgt 360
tcagtgatcc gatgtcgtct ctctcgcgta caacttctaa cagccgtttt cggtagtaca 420
aactagcgaa acaccaaaaa cgcagcattt gagttctgga atacgctgaa attgttagaa 480
tcaaccacga aaccaaatac attgttcaga aacgttgcaa cgagataaaa cacaagaact 540
tgttttaaca aagcatacgg acagtacata tacggttaca acaccagtc tttatacagt 600
tctgctggag ttccatctac tggctgtcat tgtatctcag gacagacagg ttaacatagg 660
tacaacacaa ttacaggcta aaccgaagcg aactacactg tcagcatctc taacagtatc 720
gtcaagcaag cttatttaca gctgccttag taaatttaca acgtccctgg cagaatccct 780
ctcgittctg gcagcgacga ggcacggctc atggccttag caggacatct caccgctcag 840
ctgcatagaa agcaaccgac ttcagtggaa tcacctctg ctcttgcaaa aaagttaggt 900
cgatcaatca cgcgtttaat ccaaaacaaa atgggtattt attatgctag cctatgaagc 960
tacctcagag ttctctatct gctctgcagg gaaaigaagt ccagtggaac agttctcaag 1020

```

cacctcaggg ctcttcatcc atgcctttgtg tgccttcaatg gctttcagct tatagcgaaa 1080
catctgcgat acggatctaa aattaaggat gtcgacaatt acttaacaca acaataaatt 1140
gaagcaggtc cagttaaaga aaagtagcag cgaagaatag cactctgaag tctgaacctc 1200
agataaagaa atggttgggt tttccagttc atctccctca acatggattc cagtaccttg 1260
gcattctggg caaaggatgg atgttatctt cttagggtgca ttttttgcct ttcttctctg 1320
attgcctttt cctttgcttg caattttgtc tgctagcatt tcataattggc ataaaatagt 1380
ccagtgcaca aggcaagaag tgtgaaacaa atgaaatgcc tgcaaaatta gccgtacaaa 1440
gtcattggag gttgcagcag aatactacaa atttttaag aagaaactat acactgtcta 1500
tgttttgctt gaaatgaatt caaccacttt gcattatacg gtttggaatc cctggtttgt 1560
gagaactgta attccattac aacagtgaag aagttaccat aactaatgaa tggaaattag 1620
tcaaattgct aatttttttag gtttgcttta atttatttat ctgtgagaaa tgctaagcat 1680
gtcatgcgtt gctatcttca agaaatacta agaaactgca aaggcaaaga atgtttgaaa 1740
taacttacc cgccttgagtt tctactgctg caggctagat ttctgtctt gcagttgagc 1800
aaggtagcta catccttttc aagaagcatt ggtcgcccac aaatatcaca agctttctca 1860
gcagcaaggc gcttctgctt acgcaactcc ctctcatag atttggtgga taagaggcca 1920
acttgaagat tgtgtgaagt acctgtcggg gaacctgtta tgalagcttg gctattgtca 1980
tgggcggagc tgctttgctc attcgactcc tctgaagatg ctctttgatc tgaatatgac 2040
ttctttcttc tctttccacg ggtgccagca tcatcaatca cgaagaaaga tccagcagag 2100
ataggaaggt cctgatcatt agaagaccac ttcttgccca actcaattgt ataagagaag 2160
ttgacaatgg caaagtcaga ttgctcatag gtgtcacact cateccaagcc atgggagcca 2220
tcctgtccta cccaagcaca ccagatcttg ctaatctttt tacttcttt gctagcttcc 2280
cataacctgt atgcaatatt tccatatccc aaaagatgca caggcaaatt cgaaacaaca 2340
tccttttagc atacactagg aataacgaga ggaccgtcag ttccactttg gtttgacagc 2400
acatgatctt cagatacaga agcagttcta ccattaccat gcgcatttgc accacggcgt 2460
gtgccttttg cgccattgcg agagctagaa tcatctctca acctcgaagt cacttcagtg 2520
tcgttcgctg gaaccagagc cagctctctg gtgttctgcg agctcgagtc cagcaagagc 2580
gggtccttct cgcgcgagtt g 2601

<210> 21

<211> 1333

<212> DNA

<213> *Oryza sativa* L.

<223> PCR marker G2155 MwoI

<400> 21

```

ccctctgctt gatccagtgt acatccatgg gttaggacag attagttact cagttaatta    60
agtgtgagac tggaaaaaaaa tatctgacgg cagtittata agttgagtga ttgaactagt    120
gaaagttcag ttaacigtca acggctgtag atttgggatg gcagactgtt ctgagtcaaa    180
atgaagcttt tactgtgcgt ggttaccagg tgcagtaaaa taatttcaga tctaatcgca    240
gtaaaaaaaa gtagtactat atgttaagac gagattgggtc ggtcaaaatc tatctggccc    300
tttacatctc ccaaatgtta cctcagttgc aggtggtaaa aaaaaatcac tcgtttcacg    360
tgaatgtcggc agatcatgga ccatgtctca aatgctgaaa ctctgaacaa tcaacaaaaa    420
aatccaacca gatgagctgt gcaactgata attgatcatc acactatttg caactcatct    480
ttcatgtaga tggaaacttca atcccgaaga aataatgaca gcaaaatgct gcgatcctga    540
agaaaggatg gcggcaaaaat ggcagcgata aaaaaaaaaat ggttggttac tgaagaatta    600
tttgtgcagc agttgagaca gtagcaagat aagagctagc taagctagct aggtagagtt    660
ggatggaaga gtagtagtat gagatagagc atggagcgcg acaactcaag tggatgctaa    720
agtaaaaggc attctcttct ctigtittgga atcagaaaag aaaagaaaag acttgagctg    780
cttggctgga atgttttggtt ggatcatgcg cgctctcctt agcttagctc gccaaagaaat    840
cctcgcttca tctctctcaa taattcaaag ccacgagctc tctgctcata tccagtgcga    900
cgattcccggt taatgcaaat gcattatata cagttcgaaa tgttacaatt ctigcgtttg    960
cagcaagcca gcaagtgggtg tgaattgttt aatccctcgt gcatttcaac gaaattctct    1020
caciaattcg cattgacttc ttctttagca caattagtaa gcagtgacaa ataaagaatt    1080
tttgaacagg atgtctttcc aaggaagggtg agatttttta tgtggatagc aaggatcgcc    1140
tttccttagc atgaagagaa tgtgatcaac tttaacacctt gcttacgatt atggccttaa    1200
tttttgatac cctaaacagg agcacatcac atgcatgtcg acctgagacc accaattaac    1260
tgattaagtt ggcaatticag atgcatccgt cagttacatg atcaggtgat cgatggatca    1320
actgtagggtt tca

```

1333

<210> 22

<211> 863

<212> DNA

<213> *Oryza sativa* L.

<223> PCR marker G291 MspI

<400> 22

```

cgaacaggat caaaagtaga cgacgagggc atttagaagg agaggaattg tatttggtcc 60
cggtatttta tttttaaat tgggtcgga agtttcggaa gaaaaaatgt gtcattgagt 120
gattattggc tctgaacacc aacctctctt ttcgttgatt cttctgagg tgttgggtgt 180
tgggacacga tgcigccgcc gacacgacac cgggttccac aatacactaa tctactcgcg 240
acaccttcat tgaactgcat ataattat t agaaagtcca ttaacacatc ttataaaacc 300
ttgtigaatc atataatcat tctataaagt ctatttgaac atcttatgaa aaaataagat 360
ctgacctagt cgttacactc tcttacattt tccattagcc taactaattc cgtgcaggaa 420
acgccccaaa ataatagtac caatagtc caaataccgt gccagaggcc gccaatgatt 480
agtgattaac ccaaaaaaca taatcatcat cacacgccgc taatgaccag ctctcgctta 540
gtcatccca caggcgggcc ccacacgcca ctccctgccat gtggggccac ctttcacacc 600
ccccaccaac cagaaaaaaaa actcccccaa aaaaaaaact tttaatgctt atctcgcggc 660
agtataaaag gcgacccccc caccacaca caatcacagt cagcgaccca acccaacccg 720
agccgaggag tcgagtcgtg tgaaaattac gaaattgccc ttcgactcca ccaccaccac 780
ccaccggcga ggcgaggaga ggagaaaaat tgggaggaaa aaaaaaggga aaaagaaaaa 840
gggtggagga gat tttttgcg aag 863

```

<210> 23

<211> 1510

<212> DNA

<213> *Oryza sativa* L.

<223> PCR marker R2303 BslI

<400> 23

```

tgccatgaag acctatggaa agaatactt ctctcactc tgtgaatggt gagtttactc 60

```

```

tctgtaacat ttagggctag gtcgaaggaa catgaagcat tgctgattca ctccactgtg 120
tttttttttt ctgtataggg ggaaagaaaa tccigctaca tgggcaggcc gcatgggtaa 180
cagctggaga acaactggcg acatcgccga caaciggggc aggttctact catcctctct 240
ttaacccigt ttacatagtt cttaggtttt tcagtactga tcgtaattgc cctgttattt 300
cagtatgaca tctcgtgcag acgaaaatga ccaatgggct gcctatgctg gacctggtgg 360
atggaatggt aagaacttga gatgtatctg ttcctagggt gcttaacat ttgagagctt 420
caaatgatac aacatagtt tctgctgtgc aatacagat cctgacatgc ttgaagtggg 480
aaatgggtgg atgtctgaag ctgagtaccg gtcacacttc agtatctggg cactagcaaa 540
ggtaccatag catgttctat gtactaataa ttttgcctga atgttgaact tctttgcatt 600
tcctcactgc aagttttgct tgaattgttc aggtcctct tttgatcgga tgcgatgtgc 660
gctcaatgag ccagcagacg aagaacatac tcagcaactc ggaggtgatc gctgtcaacc 720
aaggcaagcc ttctcagttt cacatgctta gatitagcca tacctcttgg atatttcacc 780
atactcataa tgtaactctc tgaacagata gtctagggtgt ccaaggaaag aaagtacaat 840
ctgacaacgg attgagggtt tcccitcaat ggcttccaaa ttigcagttt ctcatgttcc 900
cataagcctt ggcatgatca tgactaactc tgaagctgac aatactttgt glaaatttgt 960
cggtagggtt gggccggggc acicagcaac aacaggaagg ctgtgggtgt ctggaacagg 1020
cagtcatacc aggcaacat cactgcacat tggctgaaca tcgggctcgc tggatcggtc 1080
gcggtcactg ctctgatct atgggcggta aagccittgc tttcttcaga gctcaaagta 1140
gaacatcttc tcttcagaat tcagagttca taacaaattt ctgtcaattg tgcagcactc 1200
ttcgttcgcg gctcaggac agatacagc atcgggtggcg cctcatgact gcaagatgta 1260
tgtcttgaca ccaaactagt cagcaaagaa aagcagcaca ggtagtacg tgtccggcga 1320
atacagctaa atigatcagg attcaggaag aaggtttgca atttgcaagg attggttagag 1380
ctggaatagg gatgccattt ggttatgtat gtagaaataa gctgtaagcc tgtaagcgta 1440
tatgtaatca gccgtcaaat gctggcgagt gtatttctga agtttgcaac gaaagttgca 1500
gcaataaaaa                                     1510

```

<210> 24

<211> 1016

<212> DNA

<213> Oryza sativa L.

<223> PCR marker BstUI

<400> 24

```

tggggattct tttctttaag caattlaaca ttattgtcct aacaatatac acaatatitgg    60
tttttccttc agtatcaaat aattccttta cttttgaaaa cacatttgca atgtgttgga    120
aacacaatta tatcttgac  ttcccttttg aaatttaatc atttgaaaac tgattcgcg    180
ttcatggctg taatcttctc ttgcgaacat cgctctttct ttgatggttc tctgttgaga    240
agaagagcaa ccaagtaaat tticgaaatg tttttttgtt ctttctattc accattgcag    300
gttgtcaaag ccatcgagaa ggccataccg atcccgagag cgcaacccat tgccttggat    360
ggcccagcaa gggaagagct gaaggccaig gaggcgcaga aggtcgagat cgaccgcacc    420
gcggcgcctc aggtgcgccg tgagcttttg ctggggctgg catacctcgt cgtccagact    480
gccggcttca tgaggctcac attctgggag ctctcatggg atgtcatgga acccatctgc    540
ttctatgtga cctccatgta ctlcatggcc ggctacacct tcttccctccg gaccaagaag    600
gagccctcct tcgagggctt cticgagagc cggttcgccg cgaagcagaa gcggttgaatg    660
cacgcccggg atttcgatct ccgccggtat gacgagctcc ggcgagcctg tggcctgccg    720
gtggttcgga ctccgacgag cccctgcaga ccgtcgtcgt cgtcgtcgtc gtcttcgacg    780
caggagagcc attgccattc ttactgccaat tgccaatgat ctttgtgctg ttctgttctg    840
ttgtcagaat tttttcatgc ccagtttaig ggggttaagc tagcttctcc attgtaccgt    900
tctgatgtgc ggatgatgcg atgcaaagca tagtttgttg aagagatgac aaggcagatt    960
ttagcttgaa aacctggagg tgagaaaaaa aaatcctgat gtgttttgtgt gtgtga    1016

```

<210> 25

<211> 676

<212> DNA

<213> Oryza sativa L.

<223> PCR marker S10602 KpnI

<400> 25

```

accaccttca tatgaagaaa ttaacggtgt tttcatgagg aatccaacag tcgctgaatt    60
ggttggaact gtggaattct tcttggctga ggtaaccaat catcattca ccacaatgca    120

```

```

caagtttgta gcttactact acagtacttc taataagttt tgtctgttga gatatttattg 180
ctgattticta tgcattggta tctttttgac aggccatcca gtcttatcgt gctgagagtg 240
aaactgagct caacctggca gctggtagact atatagtgtt ccggaaggta cggccctatc 300
ttcccatatgg acatgtttct aaccataaac atatctttgc tggacttttg tgggcaaagt 360
tggctacact aaacttgtgt tcattaacct gctcaatcag gtgtcaaaca atggatgggc 420
agaaggatgaa tgcagaggga aagctggctg gttcccttac gactacatcg agaaaaggga 480
ccgtgtgctt gcaagtaaag tcgcccagggt cttctaggcg ttcaatgagc catacataca 540
taaccttggt gtgttacact gtattatgat cgttcgtgat ctcaaagac cctctgatca 600
gagaaatcac aaatatctt ttgttctatt attgtcatta tcactacccc tttgtcaaa 660
accagtcag cttttt 676

```

<210> 26

<211> 1059

<212> DNA

<213> *Oryza sativa* L.

<223> PCR marker Tsp509I

<400> 26

```

gcgagatcat gaacttgatt ttctgggtgc cataatgggc ttgcttgta accctgtaga 60
gaaggatagc cttaataggt aagtccttca catgcttct tccatttgct caattcata 120
cagtgttact gtcttggcag ttccctgggg tcaggactca gaaacatcca attaatgttc 180
atgttctctt aacgactcag aaatacttta taacctctcc acagggtacg gctttcatct 240
gcccgtgttc ctgttgatct atctcagaat ccacagagtg aagagacaca gagagatgtc 300
atagcactcc tctgttctgt attcttagca agtcaagggt ctagtgaagc ttcttggaact 360
ataacaccgg taattcaaaa ttcttcaagt tccctttgta tglagattat atctttgtaa 420
aactcggcat ttattacctg ctctttgttt caaaaagcag tattttattt tgctccttag 480
cataggtcag cagaacagtt gatcttattc agaaaacaat attttgcatg taacatactg 540
ttatctatga gatgaaaatt aatgcatgtg taataatgtc aatgataaat atttgctatc 600
tgaatccagt ctaccaactc tagtiagacc gaattactga gggtctatct caaagaataa 660
tttagtgcac catttggtca actactatga agtaaaatgg tattcccttc tattgacatc 720

```

gggttagaag tgaaggcca tcttaatgcg atgttctcaa tgccacaaac ccacaaattt 780
 cattaacaca tacagattat tattaacata gctataaatt ggatttccag aagcttgagt 840
 tgaatttati ttgttacaat tgaagcact gggaacatta gcattttttt ttagttcttg 900
 gtatttgcaa ttataatgt tatacagaac tgtgtacctc acaatgcatt cattatgaca 960
 ttctatgaac catttgattg actgttgctt gtaaacaaca ggatgatgag gagtctttga 1020
 tgcaaggagc acgggaagct gaaatgatga tcgttagagg 1059

<210> 27

<211> 76363

<212> DNA

<213> Orza sativa IR24

<400> 27

gatcaactaa caacctcttt gcagcaaaaa agcatacaca caagtgtttg tcttggcctg 60
 gggctctgca gatggactga tactctgacc tgcagtgggc ttgggagcta acaatggttt 120
 cattctttttt ttttttatgt ttccctctgt tgtttttgct catgttttgt gtaatttttt 180
 ctctcatct agcgaatgta ttttcttag catgatggga gtagccctcc ttttttttcc 240
 tctaattaag tgtaaagtag caacagcata gggatgaatg ttcagtgtag tgtgtggtgt 300
 ttcagttatt cagagacgtc catacagttt gtaccttggt accacacgtc ttaatctgat 360
 gaagcttaga ataaatcaca tgttagcaat gcaataicat ctgcgtcttc tctcacittg 420
 gtggccatca aattcttgtt agaagtgtat ggttgggtgt ctgttgcaaa tgccgtattc 480
 cgctctgttt tgtggaagtt aagaagtcct tagttgaaat accgattttt catgatctcg 540
 gagattgatg caactctgat tgcagcattt ctttttatta gaatgtacac tccatgctat 600
 catgatgttt atgttttagt actacaagat ttggtttaacc attattttta taccataata 660
 attttataaa atcttggagt aacaagtcca taatacatga tagcataact ttttgaggct 720
 agtctatgta tattgtctcc ttgtttttta aactaagcac tcaataaatt attgatggct 780
 gtaattttct gaaggtttca ccggtttcgg cccgtgcttt ataaatagct tcggcacaaa 840
 agacaaaacg gtccctccaa cacataaatg gttgagttta cgttttcatt atctttggta 900
 aatcaagtc caccacgtag acactcataa caaagtttg aataccctca gaaattttga 960
 cttaggtcta tcttaccttt gatateggac atccaacctt ccttccctcc ctgaacttta 1020

tattattcat attacaccig aactttatat tattcatatt acaccctgaa gtgggttttca 1080
tttaattgca tacaigciga aatagtttga caacgtgaga tgcactaaaa atctacacgt 1140
tcgtcttaag ttgcaattca ttttatccct tttctttttc tctcttacct aggaatatca 1200
atagtactaa ttcacattac aatatagtat aaattggtaa tcgattattg gcaatatact 1260
atattaaata ttcaaaacta gtcatttaag ctgccaaata agtaaaccac tatcgaaaac 1320
cacaatataa atggcattac aaaacttagg ggggtigaata tccaatttta aagttcattga 1380
tgctagagga atttctatca aaagtttatg ggtacatatg gactttttcc tttttaaaag 1440
aagctattct tgtcglaaac gttaaatatt ttttgtactt ttttttttat gattgaaaaa 1500
aaaacttagt tttcaaaaatg attggctctgt atacaagcat caattagact taataaatte 1560
atctaacagt ttccctggcag aaactgtaat ttgtttttgt tattagacta cgtttattat 1620
ttcaataatg tgtacgtata tctgatgiga caaccaaacc caaaaatttt ccctaactcc 1680
atgaggcctt acagatata tttgatgggtg taaagttttt taagtctttt ggggtgcaaag 1740
tttttaaagt atacggacac acatttgaag tattaaatat agacaaataa caaaacatat 1800
tacatatctt gccctglaaac aacgagacaa atttattaag cctaattaat ctgtcattag 1860
caaacgttta ctgcagcatc acattgicaa atcatagcgt aattaggctc aaaaatatte 1920
gtctcgtaat ttacatgcaa actgtglaat tggttttttt ttcgtcaaca tttaatactc 1980
catgcatgic caaataattg atgcgatctt tttggccaaa ttttgtttga atctaaacaa 2040
ggatcaaat tgcitgaattt ttccagacgt cacggcttgt tcatccatcg ttgcgatcgc 2100
gattcgccac cgacgccttg gtttccaacg aattttatca tccgcttaaa tacatccaaa 2160
gctctccatc gccatcggcg gccaacggcg accgcctccg tctacccaat ccacccatcc 2220
actcgccgcc gccccctgat ccaaagcctc cgccgcgccg ccgtcgagag gaggaggagg 2280
aggaggagga ggaggcgtga gcccctatgg ggacctcct cgggccgcgt ccgcttgccc 2340
acgccgccgg cgccggcgac gccacgccgt cgaccgcgca cggtagccac gcgcctctcg 2400
agaggcccc ccccccgcc gctcgtgat ctctcttctc atcctgtttg ggtttgggtt 2460
tgtgatttgg gtgttttttt tttttccgca gcggtgggtg tgagcggttg ccgcggccgt 2520
ggcgtggagt gccagccgca tcgggtgcgc cgccgcccg gtcgcaggt tgcggtggcg 2580
acggcgagct ggaggaggcg gagggagacc gtggtgagat cggatttcgc cgctgggtgt 2640
gccgctacca tgggggattc gccgcaggcg ctctcagggt tgcagcctcc tccactctct 2700
tctcgcaaaa tgtgttgcta tgttctctc gctgggctgg cctcatagcc attaatgtag 2760

ttgtctggaa cattacattc ggaacgttgt tggcaattgc ttgacaaaat gtggaattgt 2820
 ggaggggaga aaaatcgitt gaacctgcag tgacaaaatt gccatctata attttaaaac 2880
 tgaagggtgtg gaaatcaaac ataatcattg ccagcacatc attcttgtta accaccttga 2940
 cataattgttg gcttataaca gttagctcca caccaacttg gaagggtgtca atggaatgtia 3000
 agtataaatt gaggataact ggcagttgtt aagactttct acagaacttg tagcagctaa 3060
 aactagctat tgtgcattta tgtttcatgg aatttgagcg gcaatggata tticttacta 3120
 agacgtataa tgcaaaaaaa aaaaaaaaac tatgtctatg cagttttacat gtaatgtgcg 3180
 gatgcaaata aaatcatgtt catggacaaa ctaatgggat tcataccaaa ticcagaatt 3240
 gcatttctta tgtggttact ttgttttgtt gatttggtta ccagacatcg atgtggtttc 3300
 aagggtcaga ggggtttgct tctacgcggt gacigcagtt gcagcaatct ttttgtttgt 3360
 cgccatggtt gtgtgttcac cacttgtgct cctatttgac cgataccgga ggagagctca 3420
 gcactacatt gcaaagattt gggcaactct gacaatttcc atgttctaca agcttgacgt 3480
 cgagggaatg gagaacctgc caccgaatag tagccctgct gtctatgttg cgaaccatca 3540
 gagtttcttg gataictata cccttctaac tctaggaagg tgtttcaagt ttataagcaa 3600
 gacaagtata ttatgtttcc caattatigg atgggcaatg tatctcttag gagtaattcc 3660
 ttgtcggcgt atggacagca ggagccagct ggtatggctg tagtctcatc cctgctttct 3720
 taagtagaca tatatacatt tacagtatit ggtaaataaa caagatttta tgaatcata 3780
 atgatttttg ggaaaacaca aaactctctt tgttggctgc ctigaacata gtictgttca 3840
 cacagttata gcaccttctt taaaatgaag aactttgttg catacacata aggccaaacc 3900
 acataatgaa ttttgtttat ttctatcttt gaatgttagc atcgtttttg tttaatgcat 3960
 gatcgcttc ctatataatt gtagtatgtc aacattgtat tccatgctga gcataacaaa 4020
 tggtttgtta aaattcagga ctgtcttaaa cggtgtgttg atttggtgaa aaaaggagca 4080
 tctgtatttt tctttccaga ggggactaga agcaaagatg gaaagctagg tgcatttaag 4140
 gttcagtaac caaacttagg ttacattaca tctaatgaga tttttatatt cagtatataa 4200
 tgttaacctt ctcatgggtg actgacgttg ttataaatgt cccagagag gtgcattcag 4260
 tgtggctaca aagaccggtg ctctgtgat acctattact ctctcggga cagggaact 4320
 gatgccttct ggaatggaag gcacccitaa ttcaggttca gtaaagctca ttattcacca 4380
 tccaattgaa gggaatgatg ctgagaaatt atgttctgaa gcaaggaagg tgatagctga 4440
 cactcttatt ctaaacgggt atggagtgc ctaaagaaag atgggtgttt tttttattat 4500

atggaaccta ttcaaaggca cagacaggct ttcaaggcta agcttgttac aggtactgat 4560
 actagttact aattactttc gtaatcagta taaataagct tgtgtagtgt aatggcattg 4620
 tacatttctg cacttggtaa atttacagaa gaggcaagta atattttaga ggattgagtt 4680
 taticacca gtcatatagt tgaagaggca agtaacctgt aagagaggac tgaacattaa 4740
 cacctcttgt tcgattaaaa atgaccaaag agcatcaaac atgtattcga ggctgttact 4800
 ttagatatgg cccattaaatt tgtttagtgt tctatgtaca tcctagttagg tgtaaatgcc 4860
 agttaccatt tctatgatct aaaacaatca actcttttag tataattttca aaaacgaaat 4920
 tcagtacaca tgtaatgaatc ttaatatctt tctctagctc gttacaaaag caacaaaggc 4980
 accgtgtcag ctgggtcaca ttagctagtt tgtacttagc attatccact agcaccttat 5040
 tttcatgcat atcatgctaa ttigtctggc cacgttgagt gggaattttt ttcattgtttt 5100
 ataatttata tatgttttag acttctagtc cacaatttat gtacttcatg ttcctgagcc 5160
 tctagtatgg ctgatagcag actagggtgt gagtgcgtgc cttttttgca gactgaagag 5220
 agaagaaata caagactgtc cattgttagt cagatttgta aaaatagact ctgatgtagt 5280
 ttacttttgc cccattttta tttttaacaa tacaaatata taacagatcc taagaactta 5340
 tcttaattta ggagaagttg ctctgttcat taaattaaat tgtgaagtaa aaatgtgtgc 5400
 tcgagtcgtt caatgcaatc ctgtgttctt gtttgaagat atgggttagg gcaggccagg 5460
 attgaacact gaatggtaag actgcttctg ccttcagacg ttattgctaa atttttagct 5520
 acttgcagtt agtgcgtcca cgccgattaa gcagtagaac aaagtagttt tgtcgtgcac 5580
 aaatgagtta tatttcattg gaaatcgaag cgaaaacgaa tcaaaagtta gaagaaaagg 5640
 ggaaacttgg taattactcc ataaagagag tgcattttat tggtaagatg gtatccggaa 5700
 gctgtgagct ccgggctgta tgtattctgg caaatttgat atgagatgct cgattattgg 5760
 cttaaagttag cgatatcaaa ttltggggaag caccaaagga attatttgtga aggagttaatg 5820
 ggtgcgtgac gttatctgct aggttcaaat ccttgtggct atgaatattt atctgctagg 5880
 ttcaaatcct agtgactatg aatattaatg ggtaaggtaa gggatttatt gtttaatttta 5940
 gtttctttta gatttgtcca tcggacgcca ttcggtaact gtaataatgc ttigtattgg 6000
 attcacttgt gttacatgca cgcactaaac atgtgcctta ccttttcac tgtttttgcg 6060
 ttctgggcta gaaactcaaa cgttgaattt tccatggctt gctcaacttg acaattactg 6120
 cgtgtcaagc gatcttatac gcatactatg cgcacaagtg attgtatacg gatattgatga 6180
 cagtataacg tgtgatattg atttttttta taaaaaatg atgttcattt ccttgatgaa 6240

ggaacaaaga ctttttttaa aagaagggtta ttactaaaaa caaaaatgac aaaaacaaaa 6300
talcagtgc catggcaagt gtgctcggca attttttctc tgtactttta aaaaaatac 6360
ttctatatgt tcttttttat aagggtggca caaatctttt aaatgagcca aatatctaca 6420
ttggatttat taaaaactgt ataaattata atttatactc tgaaagggtg tgtgcatctc 6480
tcttggagaa aatgtataag ttgcaaacia acattaatcc acgttatgta actttttttc 6540
gccggaaaagg ccgaaggagg cctgacggag cgtggggctc ctaccggga gaccgcgcag 6600
gcccccttt gccggttcgg ccggggactc agggtgaaat tctaagctct ctgtatgtgg 6660
aagggtcgcg accgtcgaia gagcataaga cacgggcgat gtatacaggt tcgggccgct 6720
gagaagcgta ataccctact cctgtgtttt gggggatctg tgtatgaagg agctacaaag 6780
tatgagccag cctctccctt gtctcgggtt ccgaatctgg aaaagtcag tccagtcctc 6840
ccctctaagt gggcaaggct ctccttttat atcttaaggg gataccacat gcaccatctc 6900
cctcctttct gtggagactt accctacctt ttcataaatg gacggagatt tgtatagtgt 6960
ccgtccgaat gacctctga taggacggcc catacctacc tccacttccg ccgaaagcag 7020
gtgcgacgtg ggattatggc tgtctgctga cgacatgacc agtctcagac tggtcacaaa 7080
ttgtctatc ctgtccacca cgcgtcagtt tagcaatcta catgttggcc ctctctcaca 7140
caacatcttg cctgtaatgg ttaggaigaa gccctggcata tatctaacca ggactaacgt 7200
gccatctcta ggaggtaaca cgctagctcc agctggggac gagcgccctag aagccctcgt 7260
cctgacggga tggggcgagg cgtgcgtcag atcgccgttc gccacctaac ctgcgatctg 7320
accggtctgt gactggctac agaccggata aacgagtgca ctgcacttct ttacatgcag 7380
cgtgacacgc tcagccaaac cgcaataaat gtgggttaggt gagccccgt gtgtctacct 7440
aaccataca cgcggagcaa aaaccacga ggggtcgggg cgctcggcc ctccggggccg 7500
aggcgggtgc ggtccgacct cctcgggggg actaagagga gggcgaacac atcacctcgt 7560
ggcccgcgt ccccgaggg tgcaggcca cgtgggcgat tgtgtctgcc tcaaacctct 7620
agtcatgata ctctgatcc catgtcaccc acagtagccc ccggcgttat gccagggcga 7680
tcgcccctct taagggaagc ggtcgggcgt gacgccactc ctaaggcctg gtgacaggtg 7740
ggaccggctt ccacaattgg gcagaaacct aacggtcaca aatcacgcac atcggcaatg 7800
gtaactctac tatcaataat gagcggctct ttcaagactg ccacattact cgagtagcac 7860
acgaatctgg acatggcgat tcgtttctgtc tggagatatg gtaacgtcgc ttgtgtcggc 7920
gagcgtaatt aacgcgcgca cgatatgata tatctcgact gccacaaccg cataatccac 7980

tcatgcgccg caagcgggcg aatgggatta gtggaagcgt gggcgcgaga aacgaggggg 8040
cgaaatagtg ggcgcgagaa gcgaggagcc gggcacagcg ttggcaagag tataaaggca 8100
ctgaggaaag gatctgttcc ctcccttttc ccatcatctc ccttgtcttc gccgcttgcg 8160
ccctaactcc ttctttccctg tgctctactt tcgccacacg cgtcgcctct caatcttctc 8220
ttcctccggc gccatggcac ggggctccgc tctgctcgat ggtagcgtgc tgccgccttc 8280
ccgcatcgtg agcgagaggc aggcctgggct gccgcgccgc ttcattgccg aatctgccac 8340
cggccgggag atagtcacgc tgggcgaggg acgcccggcg ccagactacc cggggcggtc 8400
cgtcttcttt ccccccttg caatggcagg gctgggtccg ccattttctt ctttcttcat 8460
ggaigtcttg aagtcttacg atctccagat ggcgcacctc accccaacg cggtagtgac 8520
attggccatc ttgcgcgcatc tgtgcgagat gtccattggg gtgcgcccat ctcttcggct 8580
gttccgggtg ttcttcaccg tgcagtcggt gtgcgcccca tcggtagtgt gtggctgcta 8640
cttccagcca cgggggcccgg tgcctgaatc ctacatcccc tgcgccctcc gcaagaagt 8700
ggacgactgg aagagcgact ggttctacac cccctcgcg gacgaagcgc gcctccgact 8760
tccgagccag cccccggcgc aggcctccag ctggcgggcg ccggtagatc tgggggatgg 8820
ctatgacgcc gtcctcgacc gcctggcggg cctacgatcc caggggctca cagggacat 8880
ggtgtacggc gactacctcc gtcgtcggat tgcgccgctc cagcggcgcg ctccggcgcg 8940
ctggggagtac accgggtccg aagactacat gaggaccac cagggagtca gatgggactg 9000
ggctccctgag gatticaaga tagtgggtcca acgggtgctg aatctcaact ccatggaggc 9060
gtccctcatt cccaaggaa tcttccctct ctgcagcgat ccagaccgcg cctccatctt 9120
gaccattatg acggcggctc gggcctcaga ggagttagct ccaaagggcc acgacggcg 9180
aggcgggagc cgtagggggg atcaatctac ccggggaggg ggtcgtgctt ctgggtctcg 9240
cgacggaggc ccgaggagca gccgccctgc cgacgcccgg gggaagagga agcagggagg 9300
aacacctccc ccatctctc cccgaggggg cggggcggtg cgtgccagca gcaggcgccc 9360
ggaggggggc gcgccgacat cgcagcccga gggggagcgc aagaagaagc ggctccgcaa 9420
gatgggggag acagaacat ctccaggaaa ccttatttcc cctctaaagt ggtcgtttaa 9480
ccgacccccct cgcagggttcg tctctcacc atcgtggctg tattcattct ctcaacgcga 9540
gttttcaact acccatcttg ttctgtctt ggtcttttct tctgtttcag cgagatccc 9600
tcgcttccct cccgccatt caagtcgggc cagictgagg ccgaggatcc ggccggccga 9660
gaggccccga ggcgggaatc tgaccggcga gaggccgcgg atcgcttac ggaagccgag 9720

gagggccgccc aggaggccgc ccgggctcgc caggctcagg aaaccgctcg ggaggaggcc 9780
 gcccgggccc gccaggccga ggaagccgct cgggaggagg ccgcccgagc ccaccaggcc 9840
 gaggaagccg ctcgggagaa agccggattt cgccaggacg aggcaatggc gacttccgag 9900
 gcagctcgcg atgaggctgc gggcgcgctc cttgagccca ctctctcggg cgacgctcag 9960
 gcgacaactt ccggggcagc tggcgacgag gctgcgggcg cgtcgcttgg gcccactccc 10020
 tcaggcgacg cccaggacca accaggctcg agggacatcc ctgagtcggg cacttccatc 10080
 ggcgggccga gccgcgtggc atcctctcca aggcggctct tccccacgcc ttctatcgcc 10140
 ccactgagcg cagagccctt tctgcaggcc ttggccgccc caaacaccgc ggtgttggac 10200
 gggcttagtg cccaggctga ggccctgcaa gcagagtggg cggagctcga cgccgcgtgg 10260
 gcgcatgtcg aggaggggcg gcgctcagtg gaggccatgg tggaggtggg ccgcaaggca 10320
 caccgccggc atgtctcgga gcttgaagcc cgtaagaagg tgttggcgga aatcgccaag 10380
 gaagtggagg aggagcgggg ggctgcccctc attgccacca gcgtgatgaa cgaggcgcag 10440
 gacaccctcc gccttcaata cgggagctgg gaggcggagc tagggaaaaa gctcgacacc 10500
 gcccaggggg tgcttgacgc tgccgctgcc cgagaacagc gggcggggga gaccgaagcg 10560
 gcgtcccgcg ggcgcgaaga gacccttgag gcgcgcgcca tggcgctgga agagcgcgcc 10620
 tgcgtcgtgg agagggatct ggccggaccgc gaggcgcgccc tcactatccg ggaggcaaca 10680
 ctggcgggcg acgagtcgac ctgtgccgaa gaggagtcg cactccgcct ccacgaggac 10740
 gcgctcaccg agcgggagcg agctctcgag gaggcgagg ccgcggcgca acggctggcg 10800
 gacagcctgt ccttcgcga ggcagcgag gaggagcagg cgcgccgcac tctggaatgt 10860
 gtccgcgccc agaggaccgc actgaaccag caggccgctg acctcgaggc gcgggagaag 10920
 gagctggacg cgagggcgcg cagcgacggg gcggctgcgg gcgaaaacga cttagccgcc 10980
 cgctcgtctg ctgccgaaca taccatcgcc gatctgcagg gcgcgctaaa ctctcgcgcc 11040
 ggggaggtcg aggcctccg cttggcaggc gaggtagggc ccggcatgct ttgggacgcc 11100
 gtctcccgcc tagatcgcg cggtcggcag gtgggcctct ggagagggag gaccgtaaag 11160
 tacgccgcca accatggagg cctcgcccag cgctctcga agatggccag ggctctccaa 11220
 cggctccccg aggagctcga gaagacaatt aagtcacct cgagggacct cgcccaagga 11280
 gcggtggagc tcgtactggc gaggttaccag gccagggacc ccaatttctc tccatggatg 11340
 gcgctggatg agttccctcc tgggaccgag gacagcgcg gcgcaggctc gggaatgccg 11400
 cgaccataac gtccacagct tcgagggtc agcccctcgg ctcgcgctcg cccccaactc 11460

cgacgaggag gacaatgccg gtggtgcaga cgacagtgac gatgaggccg gcgacccggg 11520
cgtaicggat tgatccccc aagccccgcc attcittagt tttttcttct tttccttctt 11580
ctaaggccct cgggccctct ttttgtatag atcaacttaa tctgtaatca aaaatgaaga 11640
aatTTTTgtg tcaatticat ctigtctgtg giatgagatg aggatgatct gtgacgtggt 11700
ccttttgcgt cttagcttga ttaagggtc gtgcccaggt cccagtcctc aaaaggcgtg 11760
ggtcggggct agtgcctggg gagatccaca igtcgagact ggccaggccg ggaacgtggt 11820
gaccgagggt tatgggtgac ccgattgtgg gtttttgccg attcccccc ggagttcacc 11880
acgccccggg gcacggctcg gtctcgggcc ccgtttggcg attttagccg acccgagccc 11940
ccgagggcag gattgagcac gattgacctt ttcaagtca agattcttca aaaggaaaaa 12000
aaaacacaga tacagccctt aggaaattga aactgccttt attgaaatac tgaaataaga 12060
gaaataagaa tgtgcatgtg tggcagcccc cggccaacgc tgcacgcccg agggggtgcg 12120
gggttggccc gagccccgaa cctgacaccc gacccccccc tcaggggtag aagcgacgaa 12180
ggtgttcgat gttccacggg ttaggcagct caatgccgtc gcccggtggc agccgtatgg 12240
agccccggcc ggggacgccg accactcgat acggaccctc ccacattggt gagagcttgc 12300
tcaatccagc acgcgtttgg acgcggcgta ggacgaggtc gtcgacgcag agtgatcggg 12360
cccgacgtg acgctgatgg tagcgccgca ggctctgctg gtagcgcgcg gccttgaggg 12420
ccgcgcgccg ccttcgctct tccaagtagt cgaggctatc tctgcgaagt tgatcttgat 12480
cagcctcgca gtacatggtg gcccgaggag acctcagggt gagctcggat gggagaaccg 12540
cttcgcgcc gtagacgagg aagaaaggcg tttccccggt tgcctcggtt ggtgtagttc 12600
ggtttggcca gagcaccgt agcaactcct cgaatccatga atcgtcgtgc ttcttgagta 12660
tgttgaaggt ctltggtttta aggcctttga ggatttctga attggcgcg cccacttggc 12720
cattgcctct ggggtgggca ggtgaggcga agcagagctt gatgccatg tcttcgcagt 12780
agtcgccgaa gagttcacta gtgaattggg tgccattatc cgtaataata cggttaggca 12840
ctccaaaccg ggccgtgatg cctttaatga atttaagtgc ggagtgccta tcgatcttga 12900
cgaccggata agcctcgggc cacttagtga acttgctgat cgcgacatac agatactcaa 12960
acccgcccgg ggcccgcta aacgggtccca ggatatcgag cccctagaca gcaaattggc 13020
acgaaagtgg tatgggtctgc agggcctggg ccggctgatg gatttgcttg gcgtggaatt 13080
gacacgcctt acatcgccgg accaggtcga ccgcattcatt gagagctgtc ggccaataga 13140
aaccttggcg aaaagcttta ccaaccaagg tgcgcgaggc ggagtgggct ccgcattcgc 13200

cttcatggat atcggcaaga agcacaacgc ctltgtlcccg aggaatgcac ttcaggagga 13260
ttccattagc cgcgcgccga tagagggtcc ctltctaccag cacgtagcgt ttggagatgc 13320
gatggacgcg ttcactccct tcgcgggtcct cgggttaaagt cttatctgtg aggtatgctt 13380
ggatctcggc aatccaagca atcaatctaa gggagctggg agcgcctccc tcgggtcccg 13440
aggcctggac ttcgacgggc ctccggggcc ggtcaggcgc gtccgtctcc cctaagggtt 13500
cgggtcgcgc cgacggctgg gcaagccctt ctltcaaaggc gcccgggtggg gtctgggtct 13560
gcgtggacgc gagccgtgag agttcgtcgg caatcatgtt atcccgtctg ggcacatgcc 13620
gaagctcaat cccgtcaaaa tggcgctcca tacgccgtac ttggcgcacg taggcgtcca 13680
tctgcgggtc agagcaccgg tactccttac agacttgggt aacgaccagc tgggagtcgc 13740
ctaacaccag gaggcggcgg atccccagtc cagctgccac tctgagtcgg gcaaggagtc 13800
cctcgtactc tgccatattg ttagtcgtct gaaagtcgag gcggaccaag tatctgagga 13860
cgtctccgct cggagaggct aacgtgacct ccgcaccggc gcccgaaga gacaggagc 13920
cgtcgaactg cattaccag tgggcgggtg gaggcagctg cgaggggtcc gtgcctggcct 13980
cggggattga gacgggtctg ggagccgggg tccactctgc cacaaaatcg gcgagagcct 14040
ggctcttgat agcgtgacgt ggttcaaagt gcaaactgaa ctcagaaagt tcgattgccc 14100
atttcaccac ccgtccctga cctctctgat tatgcaagat ttgaccgagg gggtlaagacg 14160
taaccacagt gacccgatgc gcctggaaat aatggcgcag tttcctcgag gccatcagaa 14220
tagcgtaaag catcttctgg gcctgagggt atcgggtttt ggctlcccg agggcctcac 14280
taacaaagta gacgggccgc tgcaccttcc ggtggggccg atcctctctg ctaggggccg 14340
catcccctgg gcactcttct tccaagcagc ctccgcgggc gcacttgtct tctgtgtga 14400
tgacctcggg gtccggaggat aacaggggcg gccttcccac agtggctttg gggccgtcct 14460
gggggtcagg ggctccctgg gtctcctggc aagcgggcaa agggccaact ccggtcgtca 14520
ggggccttag gcctccgttc ggctcggggg cctcttctcc ctgctcttct ccgggtcgag 14580
tcagcacagg gttagccctg ggttcaaagg gcgatagggt cggccttccc acagtggcct 14640
cagggccttc ctgggggtcg ggggtctcta gcaccgtctg acaagcgggc agagggccaa 14700
ctccggtcgt cggggggctc agggccaccgt tcggctcggg ggctctctct cctgtctctc 14760
tcccgggcca agtcggcaca ggggtggggaa gcgcgaaatg agaattatcc tcatcgcgct 14820
ccacaaccaa tgccgcacta actacttgcg gggctcgggc taagtagagt agcaagggt 14880
cgtctggctc cggggcgacc ataactgggg gagagcttag atacgccttc aactgggtga 14940

gggcattttc agcttccctc gtccaggtaa acgggccgga gcgtttgaga agcttaaata 15000
agggtaacgc ctctctctcc agcctcgata tgaaccgact tagggcggcc atgcaaccgg 15060
tgacgtatig cacatcccta agtttgctgg ggggcgcata cgctctatag cccgtatctt 15120
ctcgggggttg gcctcaatgc cccgggcaga gaccaagaac ccgagaagct tgcccgagcagg 15180
tacaccgaac acacacttat cgggggtttaa ttttatgcgg gcggagcggga gactctcaaa 15240
agtttccgct agatctatga gtaacgtttc ctgggtgcgc gtctttacaa ccaagtcata 15300
gacataagcc tcaatattac gtccctaattg gctaccgaaa gaaattcgag tagtacgttg 15360
aaaagtagga cctgcattct ttaacccgaa gggcattgtc gtataacaat aggttcciat 15420
gggggtaatg aacgcagttt tttccctcctc ctccctagcc atgcgaatct gatggtaacc 15480
agagtatgca tctagaaaac acaaaaggct gcaccccgca gtggagtcga caatctgata 15540
tatgcgaggc agggggtaag gatccttagg acatgccttg ttaaggctcg tgiagtcgat 15600
gcacatccga agcttgccgt tcgccttggg aacgaccacc gggttcgcca gccactcggc 15660
gggggtgacg ctgccatcat atttttcggc gatgggtgggc cggaaccttg ggggccaacg 15720
gacattccga agactcgcca caaaggctct acagccgaca ccaccaaccg ggggcacgga 15780
gggctgattc ccgcgtccgt gttgaggatga cactctggac gaggaagcgc cctccgttgc 15840
gtgggcagca ctctgggtcat tacgccggcg ctcgatgctg gtgcgggcgt ccggccccc 15900
acgcagatct ttctgggtcg aaggagtcga cgaaggagtgc gcggccgaat ggcgaacagc 15960
ggctgccgct cgtcgtgccc tccgtcttga cgacgcggag ccggtggtag cagcaccaga 16020
ggccttgggtg gcggaggacc gccaccagc atctaggcgc tgccgtgccg tcatgactaa 16080
tttggccacg tcgtccagcc atcgttgggc tggagactcc gggtcaggga cgacaggcgg 16140
gtgacgtaag agcgcgcccc cagcttggag cgcgccttgg ggctgtctgc cgtcgccgta 16200
gacgaggagg cgacgtctcc catctcgccg ttcttctcca tcgccgcga tcggtgaagt 16260
cgcggatctt tcgacctctt cgagcgctc cccccgctta ggactttggc atggaggag 16320
cgggtggagta cgagctcgac ggcttgggtt cggtccccg tcgtcgccac tcacactcgg 16380
agagaggctg tgcgccttgc ctgtctcggc catcaggctg aacaggaaaa gcttggcgca 16440
cacggaagag tacgagagct cagaaaaaca cacactgagt cccctacctg gcgcgccaga 16500
tgacggagcg tggggctcct caccgggaga ccgcgcaggc ccccttttgc cggctcggcc 16560
ggggactcaa ggtgaaattc taagctctct giatgtggaa ggtttgcgac cgtcgaaaga 16620
gcataagaca cgggcgatgt atacaggctt gggccgctga gaagcgtaat accctactcc 16680

tgtgttttgg gggatctgtg tatgaaggag ctacaaagta tgagccagcc tctcccttgt 16740
 tctgggttcc gaatctggaa aagtcacagtc cagtcacagtc ccccccctcta agtgggcaag 16800
 gtcctccttt tatatcttaa ggggatacca catgcaccat ctcccctcctt tctgtggaga 16860
 cttaccctat cttttcataa atggacggag atttgtatag ttgccgtccg aatgaccttc 16920
 tgataggacg gcccatacct acctccactt ccgccgaaag caggigcgac gtgggattat 16980
 ggctgtctgc tgacgacatg accagtgta gactgggtcac aaattgtca ttcctgtcca 17040
 ccacgcgtca gtttagcaat ctacatgttg gcccttcttc acacaacatc ttgccgtgtaa 17100
 tggttaggat gaagcctggc atatacttaa ccaggactaa cgtgccatct ctaggaggta 17160
 acacgctagc tccagctggg gacgagcgcc tagaaacct cgtcctgacg ggaatggggcg 17220
 aggcgtgcgt cagatcgctt gtcgccacct aaccgcgat ctgaccggtc tgtgactggt 17280
 cacagaccgg ataaacgagt gcactgcact tcgttacatg cggcgtgaca cgctcagcca 17340
 aaccacaata aatgtggta ggtgagcccc gctgtgtca cctaaccat acacgcggag 17400
 caaaaacca cgaggggtcg gggcgccctcg gccctcgggg ccgaggcggg tgcggtccga 17460
 ccccccctggg gggactaaga ggagggcgaa cacatcaccc tcggggccga cgtccccga 17520
 ggggtgccagg ccacgtgggc gattgtgtct gcctcaaacc tctagtcatg atactcctga 17580
 tcccatgtca ccgacaaggc catccgaatg tattaaggag taaaagttaac aagaaaaaac 17640
 accataatgc accaatgtgc atgaccacac accatacact acccccaagc acaaaccact 17700
 gagggatgaag cctagcacca aacgaccgcc actaagtgtg accaaacgcc gctaggccta 17760
 cggcagcaac acatagatga gacttcgaaa acgatgccac caaggtggtc acgacatcta 17820
 ggatgctgcc atcgtccatc taaaaagatg tggttttcac ccagagaaac tcatcaagaa 17880
 ggggagaggg taacccttga cagcgcccca aggaggttac gacgcccga ggcgtagccg 17940
 ctgccgggtcc ggtgaaccac cggactaggc ttcgccttag gacctatag ccttgatcgc 18000
 agatcacctt ccaccactca gaaccaccac acagacaaaa ggtagcacgt agcttccacc 18060
 acaccgcacc gacgccccct cgtcggccga ctccatcgaa ccaccatccc tgagagctgg 18120
 cccaggaccc ctccgttcca ccaccgccg gccgccttgc cagtittggc caaaggagaa 18180
 cccgggactg ggtgacattg ctccggcagc ctgagcttcc cccgctggcg agctgctgtc 18240
 tcaatccaac ctagaaactc cccgcaaaag aaggggatga gctctaggaa gggcgagggt 18300
 gccgaccggc aacgaggaag acaaccatc gactccagct cccittgcac taccatctgg 18360
 ccctgcgcca atgccggata cgctgtcgtt ccggctccgg cgccaccac ctgcaccccc 18420

tttgccitggt ctccgcgccc ctccitggctg cgtcgcgccc cccagctggc cgctaagggc 18480
accgcgacgg ccgcccggct accgaggcct ggccgcgcca tgggacagct cgcgctggca 18540
ccagcgagcc acggccgctg cgcgtgttgc ggccgcccagc agcacaaccg ccagctccaa 18600
gggcccagca igccactgag ccgcccgcgc tgcgcccgg gccggctgca cgtcaccggc 18660
gcacacgacc gcacgccgcc acgctccgcc tccgcgcccg aggcagcccc atgccattgc 18720
cgcgcacctc gcccgcggcg tgcgagccg ccaccgcgca ccttgcctgag ccgccaccgc 18780
cgtccctagc cgccctcgtc cgccgccacg ccagatccag gcgcgggatg gccggatccg 18840
gccitggggg cgccggatcc accgcctccc cacaccgcca cggcgtcacc acctccgacc 18900
gcagtgaggg ctctcgtcgt tgccecatcc tcatcgcgtc gaggaggaag acgccaagaa 18960
aaaagggcct cgccgctgcc ttccttgcct gctgccggct tcgcccggcg cgagctccgg 19020
cggcggcgag gtgggggaga agaagtgggg agtgggcagc tagggttttt tcgccccca 19080
agccgcccgt gcgagagcga cggitggggg gggggggact ttccaacctc ttccagtgtt 19140
ctagtctctc acgttatgta actcaatttg tttaaccata gaaagtaaga aacctaccag 19200
cgtgttaagc tctctttcat tcccittctt ctccctgggt ttgcttccat cacatgtcaa 19260
gtgaagggtt cttaactacc attactccta cacatctaatt ttttttctca gatctttcgc 19320
aggtatata t gatgttaca ttttatgata ttaagataat ctccctcaca ttacctctg 19380
ctgaaacttt agcttgaacc gtcacttca ccacaatttg agcccaattt gcacagagca 19440
caacgagcaa tagcttgccc ttacgttcat tatttagcat gaactactac taactacca 19500
agaatcaata caccggttta ataacgcat ttatcacgt taatataatg ttcatccaac 19560
acaccggttt tggcacagt gcaaacttgc aataaattct ttccctactc tccatcccat 19620
aatataaaa atttggtatg ctctgtctgt actaagttac tataattatga gatggaggga 19680
gcacttcttt tcttccaaaa tataagaata tagtattgga ttagatatta tctagattca 19740
cgaattcgat taggttgct agatttatag ttgtatgtaa tgtataattc ggtaataggt 19800
tattacctct caggatggag ggagtagttt tgactttttt tttcttataa atcgctttga 19860
tttttatatt agtcaaattt tatcgagttt aactaagttt atagaaaaaa attagcaaca 19920
tttaagcacc acactagttt cattaaattt agcatggaat atattttgat aatatatttg 19980
ttctgtgtta aaaatgctgc tatatttttc tataaacgta gtcaaattta aataagttag 20040
actaaaaaaaa atcaaaacga cttaataat gaaatggagg aagtagtaga ctataacaaa 20100
tttaaacgt gctttgattt tagagcatca ctaataatgt agcaataatc tatccctaaa 20160

atttattttt tttcctaaac tgaaaatagg aagtggaaat actcctccat ctaagagaga 20220
gcctaaattc aataaaaaac taaaaaacta aaggtagc cctctattaa actaccgcaa 20280
aaaatttatg ttttttttct ctccacgcg cgcagaacag atatctcgat caagttagca 20340
tgtaaaattt ttaaagagat accttatacg actccttccg tatttccaaa agcaaacgga 20400
tttaaaatct gactcaaata aagatctata tatccaattt acatgacaca tgtttcgccg 20460
aatttttata ttaataataa ttaatatatt taaaattaaa ttattagcaa ttgttttgga 20520
ggatttatca aaacaggatg gacgttggtt ataacagcgt ctagacctag acgcgcttgc 20580
aaactgcggc caccctttta tcacacaaat ttttgacaat ttgacacttt ccaaaaatta 20640
attttataaa ttaaccgtga ccaaaactta tttaaaaatg atctttttgt tgagcgcaaa 20700
atcgtatact tcagcgccaa atagcacggc gccgacctcc ccttccccct cccctctatc 20760
ctccactgct gccgcccacc tctccgtatc agctgcgtcg cgttgggttc cgccggcgct 20820
gctgctgctg caccagtccg ctaggcgggg cgggcatggc gcgccgcgcc gcttcccgcg 20880
tccgcgccgg cgctgttggc gcccttcgct cggagggctc gaccaagggg cgagggggcc 20940
gcacgggggg cagtggcgcc gaggacgcac gccacgtgtt cgacgaattg ctccggcggtg 21000
gcagggggcg ctcgatctac ggcttgaact gcgccccgcg cgacgtcgcg cgtcacagcc 21060
ccgcggccgc cgtgtcccg cacaaccgca tggcccgagc cggcgccgac gaggtlaactc 21120
ccaacttggt cacctacggc attctcatcg gtctctgtg ctgcgcgggc cgcttggacc 21180
tcggtttcgc ggccctgggc aatgtcatta agaagggtt tagagtggat gccatgcctt 21240
tcaactcctt gctcaagggc ctctgtgtg acaagaggac gagcgacgca atggacatag 21300
tgctccgcag aatgaccag cttaggtgca taccaaatgt ctctcctac aatattcttc 21360
tcaaggggct gtgtgatgag aacagaagcc aagaagctct cgagctgctc caaatgatgc 21420
ctgatgatgg aggtgactgc ccacctgat tgggtcgtat taccactgtc atcaatggct 21480
tcttcaagga gggggatctg gacaaagctt acggtacata ccatgaaatg ctggaccggg 21540
ggattttacc aaatgttgtt acctacaact ctattattgc tgcgttatgc aaggctcaag 21600
ctatggacaa agccatggag gtacttacca gcatggltta gaatgggtgc atgcctaatt 21660
gcaggacgta taatagtatc gtgcatgggt attgctcttc agggcagccg aaagaggcta 21720
ttggatttct caaaaagatg cacagtgat gtgtcgaacc agatgttgtt acttataact 21780
cgctcatgga ttatctttgc aagaacggaa gatgcacgga agctagaaag atgttcgatt 21840
ctatgaccaa gaggggccta aagcctgaaa ttactaccta tggtagcctg cttcaggggt 21900

atgctaccaa aggagccctt gttgagatgc atggctctctt ggatttgatg gtacgaaacg 21960
gtatccaccc taatcattat gttttcagca ttctaatatg tgcatacgct aaacaaggga 22020
aagtagatca ggcaatgctt gtgttcagca aaatgaggca gcaaggattg aatccggata 22080
cagtgacctt tggaacagtt ataggcatac ttigcaagtc aggcagagta gaagatgcta 22140
tgcgttatit tgagcagatg atcgaatgaa gactaagccc tggcaacatt gtttataact 22200
ccctaattca tagtctctgt atctttigaca aatgggacaa ggctaaagag ttaattcttg 22260
aaatgttggg tgcaggcatc tgtctggaca ctattttctt taattcaata attgacagtc 22320
attgcaaaga agggagggtt atagaatctg aaaaactctt tgacctgatg gtacglattg 22380
gtgtgaagcc caatatcatt acgtacagta ctctcatcga tggatatatg ttggcaggta 22440
agatggatga agcaacgaag ttacttgcca gcatggctctc agttggaatg aaacctgatt 22500
gtgttacata taatactttg attaatggct actgtaaaat tagcaggatg gaagatgcgt 22560
tagttctttt tagggagatg gagagcagtg gtgttagtcc tgataattat acgtataata 22620
taattctgca aggtttatit caaaccagaa gaactgctgc tgcaaaaagaa ctctatgtcg 22680
ggattaccga aagtggaaac cagcttgaac ttagcacata caacataatc ctcatgggc 22740
tttgcaaaaa caatctcact gacgaggcac ttcgaaatgtt tcagaacctt tgtttgacgg 22800
atttacagct ggagactagg acttttaaca ttatgattgg tgcattgctt aaagttggca 22860
gaaatgatga agccaaggat ttgtttgcag ctctctcggc taacggttta gtgccagatg 22920
ttaggacctt cagtttaatg gcagaaaatc ttatagagca ggggttgcta gaagaattgg 22980
atgatctatt tctttcaatg gaggagaatg gctgtactgc caactcccgc atgctaaatt 23040
ccattgttag gaaactgita cagaggggtg atataaccag ggctggcact tacctgttca 23100
tgattgatga gaagcacttc tccctcgaag catccactgc ttcttgttt ttagatcttt 23160
tgtctggggg aaaatatcaa gaatatcata ggtttctccc tgaaaaatat aagtccttta 23220
tagaatcttt gagctgciga agccttttgc agccttgaaa ttctgtgttg gatttctttt 23280
ctcctacagt cgtattagag gagggatctt ctctttatgt gtaaatagcg aggtatgtat 23340
gtcacccttc cgaattatit ttactctggt tcctagacgg taaacaagca attatgttct 23400
gcctttgatg ccagaaaaaa cacaaaagtt tgtcgttate tctactaacg gatcataaag 23460
gaatttgtaa ctggagtctc aaacttaatt tgtctaggca gtagttttgg cattagatcc 23520
aacatttgtt aggatcatt tgtgtgtatc aatctatagg gtttcattaa atttcgttta 23580
tgtgtactgt ttaggtgttg aatagtttga ctgtttttt aactgaacaa aagatactga 23640

aatcgttcca ttcaacaaac acatgttccg ttaatgaaat tattgtacgt taccttttgt 23700
tttcttactic acaagtgtcc tcttttctta tatectatag attggtacaa caaattattg 23760
attcaatttt ggttttgaac attgatgatc ctccctgcac tattggtgca gctgctcttc 23820
tattcatttt gtgaagtgat gtgagtacct ctcaatccca tccttatgct tctgtgcatg 23880
cttcattcca attttttacg catatcgatt gttttctttt atataacagt ccataaagat 23940
aatcacatca tgacaaagtt atttatttct acagtatagt tatataagta ttcaccagtt 24000
ttccatgaat attttggcat gtgattacaa agaagattat ttgagaaaat ccatgctttt 24060
atttcatcat ttgttttgaa gttgaacitt aatttatggt gtaaatttca gttattattg 24120
ctagcagctc gtactcttta atggtataac ttcacttgtg cttattctcc aatatctccc 24180
ttcttgttgt tcaggttcaa gaaaatcatt tgttggattc agaatctggt gtccattttc 24240
ttcttaaat attaaatcct ccagtgaatc ttgttgattc caaagcacca tcgatagggt 24300
ccaaacttct tggaaatcagt aaagticaaa tgcttaatgg atcaaataag gattctgact 24360
gcatttcaga ggaaatccit tcaaaagtgt aagagattct cttagctgt caagtgatca 24420
agtcgctcga caaagatgac aagaaaacaa caaggccaga actgtgtcca aagtggcttg 24480
ctttgttgac aatggaaaat gcatgcttgt ctgctgttcc agtagagggt aagttttaat 24540
caaatttctt ggtcatgatt tccctttatg accattatat ttatttatat gagccaaata 24600
agcagttgtc aacttgtcat aagttacata gcacctattt gcaatattca tgggtgggtt 24660
gcttagccct tttcttcacc tgcttttgat tgatgacttc catctgtgtt gcagaattga 24720
attggagtag tggactgcac tagaagcacc tatggccatt gtcatactag gaaggttttc 24780
ccttatcaaa tatttgattg ttacagagac ttctgacaca gtgtccagag ttggaggaaa 24840
ttttaaagag acattaaggg agatgggagg tcttgatagt atttttgacg ttatggtgga 24900
ttttcattca acattggaga tgagatctcg ctaacatcgc atattttaca tttcctttgt 24960
tcaactctaa tagattgtgc aggcttgttc cttttcgcca ttttagcttt aatgcgcttg 25020
aagccacatg aaagtaatgc ttgtccagat acatagccaa aggttgttat attttggggc 25080
atggaaaatg cttaggtag taactatttt catcaggaca tggaaaattg gctgcaacac 25140
aaattatggt gttttatggt gcaaaaatag ttttttaata cttttttatt ctgcatgtgg 25200
tgttagtata ttacagttcc tctgatgatt atatcccca cgataataac acttgaaacg 25260
ataataacac ttgacataac tacaccaagt gaacattatt catttggatg ttacttttcc 25320
agctataact gctgttcttg catgtgtaag caagtttgga gtaaattgcg cattaattta 25380

aatgcttggg gticcctatct gtgtactttt taticcccaa ctaataatgc aatcatatta 25440
cgctgataaa ctgaataaat aaattaaaca tatacttctg gtggcaaacc ttgtgtatca 25500
gaatctcata aaggatacat ccacttcagc ttiggaccga aatgaaggaa catctttgca 25560
aagtgcigct ctccctctga aatgtttgaa aatatggaa aatgccatat ttctaagcga 25620
tgataacaag gtaatgctcc ttatatgttc tgtttcagtt taglaccat ttctttcttc 25680
tgtactatct tctctcctga ttigtctgt gcaaaatgtg caaacagtgc gactttgtat 25740
gtctgcttaa caattttctt ttcttccctga aaaagcaata tgaactctta cattcatttt 25800
gcttcttgca gaccatttg cttaatatga gtagaaaatt gaaccgaaa cgctccttgc 25860
tttcttttgt tgggtgctat atcaatacta ttgagttatt atcaggtatt ttctttaata 25920
atacaatgtg ttcgctaaca caataaaatg ttttaaacat ccagtatgtt aaagttgcag 25980
tctgacgctt attttgtttt gctgcagctc ttccaatact tcagaattct tctgtttgtt 26040
ccagctctac atatccgaaa tegtctaaag tctctcaaca gagtactct ggtaataaca 26100
aacaccaatt ttgtttgatc agttgatctc gttggctttt ctatgcactg tctcaatata 26160
gtttggctgc cattcaagtc tctctacaga tgttgaactt ggcttgacac caaatattta 26220
taaaatgcta cctgatattt ttaatatctc atgtttcctg acccagatta tcttgttggg 26280
tcctcgtata agtttaatta gtgacattct tgaagctttg ttatgcagca gatgtcatgg 26340
ggggaacttc atttaatgat ggaaagagca agaactcgaa aaaaaaaaaac ttttgtcgaa 26400
ccagacacgt cattgttgct tatcttcaaa atcagaagtt tctcatatta ctatatcttc 26460
tggtagtgat gctggctctg cacagaaggc attcaattgt tctccattta tatcaagcaa 26520
tggggcatca agtggttcat taggcgagag gcacagcaat ggtagtgggt tgaagttgaa 26580
tataaaaaag gatcgtggca atgcaaatcc aattagaggc tcaactggat ggatttcaat 26640
aagagcgcac agttctgatg ggaactccag agaaatggca aaaagactcc gtctatctta 26700
aaatgtaatc accgacagtg gtgggtggta tgaccctttt gcatttgacc gccgcgtcgg 26760
cgctgccacc acgtaatcgc ccacgtcgtt gccccgctg ccacgtcgtc gaccgcgcac 26820
ggtaatcaca cgcatctcga ggccgccgtt agctgataac ttctcatccg gttgatttgt 26880
gattttggcg tttttgcagt ggtgatggcg gggggcgacc gtggccgagg cgtggagtgc 26940
catccgcac aggggtgata ggccgcgtg ctccgccctg gtccgcaggc ttggcgggcg 27000
agctggcggc ggaggagac tgtggtgaga tcggatttcg ccgctgggtg tgtcgctacc 27060
atgggggatt cgccgcaggc gctctcaggt ttgcagcctc ctccactctc ttcccttttt 27120

tatttttttt tctcgcaaaa tgtgttgtga tgttcgtctc gctgggctgg cctcatagcc 27180
attaatgtag ttctgtggaa catttacatt tggaacgttg ttggcaattg ctttacaaaa 27240
tgtggaattg tggaggggag aaaaatcatt tgaacctgca gtgacaaaat tgccatctct 27300
aatittaaaa ctgaagggtgt ggaaatcaaa cataatcatt gccagcgcat cattcttgtt 27360
aaccaccaatg atatatgtgt ggttataaca gttagctcca caccaacctt gaagggtgtca 27420
atagaatgtt tagtataaat tgaggagaac aggcagttgt taagactttc taaagaactt 27480
gtagcagcta atactagcta ttgtgcattt gtgtttcatg gaatttgagc agcaatggat 27540
atttcttact aagatgtatg atgcaaaaca aaaaactatg tctatacagt ttacatgtaa 27600
tgtgcggaatg caaataaaaat catgtacatg gacaaactca tgggattcat accgaattcc 27660
agaattgcat ttcttaatgtg gttacitttg ttgttgattt ggtiaccaga catcgatgtg 27720
atttcaaggg tcagaggggt ttgcttctac gcggtggctg cagttgcagc aatctttttg 27780
tttgtcgcca tggttgttgt tcatccactt gtgtcctat ttgaccgata ccggaggaga 27840
gttcaggaaa aaaatttgaa aatacccat ttttgaaaaa gatttacgtt tatatacact 27900
agtatgaaga atttgcgaaa atataactaa tccgcagatc ggttatgcgg gagcgcaaca 27960
aaagtatggc gtggcggcgc ggagtggacg gccgaggcgt tcgcgcggaa tggggctgcg 28020
ggaccgagcc agtctcgctt gccggtaacg cggaaccggt acgctcccgc agcgccagt 28080
tgcggaaccg cggcgccaac atttttttac tgcattggcac tgtgtttaat actgtttgac 28140
actgtttctg gtactgtttt acacagttcc cgggtcagtt ccgcacaatg gaggcgcggc 28200
accgaccatg aacaatgtgt gaacagtgtt gcacagggtt aaaacagtgt ataaactgcg 28260
ctgcacagtg ctggagtcgc tggccactgc ggttccgcgt ttgtgaaccg cgggaccgtc 28320
gcgattccgc gttttggagc tgccggacca tgacggttcc gcgcaggatc gtcggtccc 28380
tattttgaat ctgcggaacc gtcgctgtcc cgcgtttcca ttctgcggga tgcgtatatt 28440
tttataaaac ctctccatgc atgtatataa acataaatta ttgaaaaaat aagtatattt 28500
gcaaattttt ttcgagagct cagcactaca ttgcaaagat ttgggcaact ctgacaattt 28560
ccatgttcta caagcttgac gtcgaggga tggagaacct gccaccgaat agtagccctg 28620
ctatctaigt tgcgaaccat cagagttttt tggatactta tacccttcta actctaggaa 28680
ggtgtttcaa gtttataage aagacaagta tatttatgtt ccgaattatt tgatgggcaa 28740
tgtatctctt aggagtaatt cctttgcggc gtatggacag caggagccag ctgggatggc 28800
tgtagtctca tccctgcttt cttaagtaga catatatgca attacagaat ttggtaaaca 28860

aacaagatit taigaaatcat ataatgattit ggggaaaaca ccaaactctc tttgggtggct 28920
gccttgaaca tagttctatt cacacagtta tagcaccttc tttaaaatga agaactttgt 28980
tgcatacaca taiggccaaa ccacataatg aattttgttt atttctatct ttgaatgtta 29040
gcaccttatt ttcatgcata tcatgciaat ttgcttgccc acgttgagtg ggaatttttt 29100
tccatgtttt ataatttata tatgttctag acttctagtc cacaatttat ctacttcatg 29160
ttcctgagcc tctagtatgg ctggtagcag actagggtgct gagtgctgtc catttiitgca 29220
gactgaagag aggagaaata caggactgtc cgttggttagt cagatttgta aaaatagact 29280
ctgatgtagt ttatttttagc cccatattta tatttaacaa tacaatatata taacgtatcc 29340
taagaactta tctgaattta ggagaagtgt ctcgtttcat taaattaaac tgtgaagtaa 29400
aaatgtgtgc tctgagtctgt caatgcaatc ctgtgttctt gtttgaagat atgggttagg 29460
gcaggctagg atcgaacact gaatggtaag actgcttctg ccttcatttg tgcacttgg 29520
gctgccacgc cgattaaagca gtagaacaaa gtaattttgt cgtgcacaaa tgagttatat 29580
ttcattgaaa atcgaagtga aaatgaacca aaagatagaa gaaaagggga aacttggtaa 29640
ttatatactc cacaaattta ttggtaagat ttgatattag acgctcgatt acttggctta 29700
agttaaggat atcaaatttg gggaagcacc aaaggaatta ttgtgaagga gttgtgggtg 29760
cataacgtta tctactagtt caaatcctag tgactatgaa tattaatgag taaggtaagg 29820
gatttatgtt taatttttagt ttctttaaga ttgtgtccga gtacaccatt cggtaagtgt 29880
aataatgttt tgtattggat tcaattgtgt tacgtgcatg tgcttttacc ttttcatttg 29940
tttctgcgtt ctgggtatga atttgacgag attccatggt cagctcaaca tatcagttac 30000
tgcgtgtcaa gcgacttat atgggtatgcg cacaagcgat tgtatacgga tatgacagta 30060
taatgtgtga tattgatacg atgttccctt cttttataaa ggaacaaaga ctttttttaa 30120
aaaaagaagg ggtattacta aaaacaaaa tgtcaaaaac aaaatatcag tgcacatggc 30180
aagtgtgcac gagcaatagc ttgcccttac gttcattatt tagcatgtac tactactaac 30240
tacgcaaaaa tcaattcacc gattattaaa ctgttaacat catttttagca cgttaacata 30300
tgtttcattc aacacaccgg ttttggcaca tttaaaaact tgcaaagtgt caatactccc 30360
ttcgttacat agcataagag attttaggtg aatgtgacac atctatccaa attcattata 30420
ctagaatgta tcaccgcctc cacgccggga gggagagcgc cgccgggtgga gaaaggggga 30480
gggagtggtc gaggggaacc agtaggggtg cctccccgtc gccgccctcc cgtggccgcg 30540
ccggcgagac aggaggaaga gggggagatg gagcggcgcc gccggtgagg gcgcgcgtgc 30600

gcggggggggg ggggggggga gcggcgacgc cggtagaggaa gggaaggggga gtgggtggctt 30660
 tgagagagat aggggagagg gaaaatgatt ttagagttag ggtttgggct gctgagtttt 30720
 tataatagatc gggatcaatc aggaccgtcc atcagatcgg acaactacgg tttctccgcg 30780
 gttggggccgg gtgccacicc taggttgccc acactattgg gccacatgta cgctccgcgt 30840
 gaaataagtt cacttttaggt cctttaagtt gcctctgaat tgttcccagg cgggccgcac 30900
 tatigggcca ccccataggc catgtgtacg ctccgcacag aataatttcg ctttagctcc 30960
 ctttaatttgt cccctcaaac ttctaaaacc agtgcaaacc ttttaattttt agttcaccca 31020
 ttgcaactca cgggcatatt tgctagtac atataatatg aaacgaagga tgtagcagac 31080
 tatagaattt aaactgtgct ttcatttttag agcatcacta actgtttattt agatttttat 31140
 ttaaataaat gcagaaatga tgtttttatt atgaaaatta gcaataaagc tcccaaaatt 31200
 tcaaaaaaaaa attaaaagag atttattaat catggttaat ttaattaaaa attaaatcta 31260
 accatatcat attatttcac ggtccgigtat gaggaaatgg cagctgctat cacttatggt 31320
 gggagagaag gggcatigt tttttttata actatctctt ataactccca tgaaactata 31380
 aaataaatat aatcattatc ataacattag tttttttcca ttgcaacgca agggtaattt 31440
 ttcagtacaa taaaaaaaaa aaagtgggcc attctgaacg gaaatttctg gttttttttc 31500
 ccaagagcgc cgcacacaac tgcgcaagag atcgatcgcg atcacctgc tcgtcgccga 31560
 tctcctacac catccctgcc atctccctcc cctccactgg ctgctgctgc accgtcagc 31620
 tagggcgggc atggcgcgcc gcgcgcgttc ccgcgctgct ggccgcccttc gctcggaggg 31680
 ctcgatccaa gggcgagggg gccgcgcggg gggcagtggc ggtggcgcgg aggacgcacg 31740
 ccacgtgttc gacgaatgc tccgtcgtgg cataccagat gtcttctcct acaatattct 31800
 tctcaacggg ctgtgtgatg agaacagaag ccaagaagct ctcgagctac tgcacataat 31860
 ggcigtatgat ggaggtgact gccacctga tgtgggtgtc tacagcaccg tcatcaatgg 31920
 ctcttcaag gagggggatc tggacaaaac ttacagtaca tacaatgaaa tgcttgacca 31980
 gaggatttcg ccaaagtgtg tgacctacaa ctctattatt gctgcgctat gcaaggctca 32040
 aactgtggac aaggccatgg aggtacttac caccatgggt aagagtgggt tcatgcctga 32100
 ttgcatgaca tataatagta ttgtgcatgg gttttgtctt tcagggcagc cgaaagaggc 32160
 tattgtattt ctcaaaaaga tgcgcagtga tgggtgtcga ccagatgttg ttacttataa 32220
 ctgcgtcatg gattatctt gcaagaacgg aagatgcacg gaagcaagaa agatttttga 32280
 ttctatgacc aagagggggc taaagcctga aattactacc tatgggtacc tgcttcaggg 32340

gtatgctacc aaaggagccc ttgttgagat gcatggcttc ttggatttga tggtagaaa 32400
cggtatccac cctaatacatt atgttticag cattctagta tgtgcatacg cttaaacaaga 32460
gaaagtagaa gaggcaatgc ttgtgttcag caaaatgagg cagcaaggat tgaatccgaa 32520
tgcagtacg tatggagcag ttataggcat actttgcaag tcaggcagag tagaagatgc 32580
tatgctttat tttaggcaga tgatcgatga aggactaage cctggcaaca ttgtttataa 32640
ctccctaatt catggtttgt gcacctgtaa caaatgggag agagctgaag agttaattct 32700
tgaaatgttg gatcgaggca tctgtctgaa cactattttc tttaattcaa taattgacag 32760
tcattgcaaa gaaggaggagg ttatagaatc tgaaaaactc tttagacctga tggtagctat 32820
tgggtgtgaag cccgatatca ttacgtacag tactctcacc gatggatatt gcttggcagg 32880
taagatggat gaagcaacga agttacitgc cagcatggtc tcagttggaa tgaaacctga 32940
ttgtgttaca tatagtactt tgattaatgg ctactgtaaa attagcagga tgaaagatgc 33000
gttagttctt tttagggaga tggagagcag tgggtgttagt cctgatatta ttacgtataa 33060
tataattctg caaggtttat ttcaaaccag aagaactgct gctgcaaaag aactctatgt 33120
cgggattacc aaaagtggaa ggcagcttga acttagcaca tacaacataa tccttcatgg 33180
actttgcaaa aacaaactca ctgatgatgc acttcggatg tticagaacc tatgtttgat 33240
ggatttgaag cttgaggcta ggactttcaa cattatgatt gatgcattgc tttaaagttgg 33300
cagaaatgat gaagccaagg atttgtttgt tgccttctcg tctaacggtt tagtgccgaa 33360
ttattggacg tacagggtga tggctgaaaa tattatagga caggggttgc tagaagaatt 33420
ggatcaactc ttcttttcaa tggaggacaa tggctgtact gttgactctg gcatgctaaa 33480
tttcatgtt agggaaactgt tgcagagagg tgagataacc agggctggca cttaccttc 33540
catgatgat gagaagcact ttccctcga agcatccact gcttccctgt ttatagatct 33600
tttgtctggg ggaaaatatc aagaatatca tagatttctc cctgaaaaat acaagtcctt 33660
tatagaatct ttgagctgct gaagcatttt gcagcttga aattctgtgt tggaaattctt 33720
ttctcttaca gtccgattag aggagggatc ttctctgtat gtgtaaatag cgaggtaagt 33780
atgtcacctc tccgaattat tttagactgt gttccctggac tgtaaacaag ctattatctt 33840
ctgggtgtga tgccagaaaa aacacaaaag ttgtctgtta tctctactaa cggatcataa 33900
aggggtttgt aactggagtt tcaaacttaa ggtatctagg cagtaggtat atattgatcc 33960
tacatcttat gatcttaaga tgatactctt ctcatatcc tctgctgaaa ctttagcttg 34020
aaccgtcac tacaccacaa tttagacccc ttagcacaga gcacaacgag caatagcttg 34080

cccttacgtt cattatlttag catgcactac tactaactac ccaataatca atacatcggt 34140
 tattaacctg ttgttacagt ttaataatgt catlttatca cgltaacata tgtttcattc 34200
 aacaccacac cggttttggc acagttgcaa acttgcaata acatlttttac tacttctccg 34260
 ccccataata taacaatctc gttccatact atattgctat attacaggat ggatgaagta 34320
 ctctctttct tccaaaatat aagaatctag tactagatta gatattatlt ggattcacga 34380
 atttgattag gctgtctaga ttgttagtcg tatgtaatgt ctaattcgggt aatagglttat 34440
 tactcttttg gatggaggga gtagttltta tttcgtactc cctccgtttc atattataag 34500
 ttgttttgac ttttttctta gtcaaatltt attgaglttg attaaatltta tagaaaaaaa 34560
 ttagcaacat ttaagcacca cattaglttc attaaaigtg gcatggaata tatltttata 34620
 atatgtltgt tttltatltta aatgctacta tatltttctta taaatgtagt caaatlttaa 34680
 gaagtttgat tatgaaaaaa tcaaaatgac atataatatg aaactgagga tgtagcagac 34740
 tatagcaaat ttaaacatag cttltatltt agagcatcac caaaagatta gcaataatlt 34800
 atccctaaaa ttcaaglttt gggttltctta aactgaaaat aggaagtga aaatctlttc 34860
 cgtccaagag atagcctaaa tcttatctta actaatltta atatltcataa ttttctlttc 34920
 gtcacatltta atlttcgtcc gttaaactga ttgaaatcca attggacaat ccaaaaaata 34980
 gagaaaaaga acagaaaaaa taataaaaag cacacaaatc ttatctcaat cccgcgggaa 35040
 gctgccgacg ccgccgaatc cgctcgagcg ccgccgccgc cgctcacggg gaacgatgtc 35100
 gctgctgtcg cacgcgggtat gggaggggcg cgctgccact gcttgggaga taggatatgg 35160
 agagagaagg aaatgtgagg gttagggtta ggtltttccc cgtccgtatc ttcagcgaca 35220
 cggaggcgat ccaagctgtc catcagatcg gacggctcag aatgcctcca tctcggggcc 35280
 gcgcatgttt gatggggccga gggaaggccg gagggctcga caaacgcaat caaaggagga 35340
 gttggaggag gtaaatltga atlttatltgc gggctgagat agtaaatgga ctgaaaatgg 35400
 cccatagaga aattgggaat tltatlttaa taaatgtltga aaaggtgttt atattatcaa 35460
 aattaaaaat taagctccga aaattctaaa aaatattcaa agagcattat taatcatggt 35520
 taatlttaata aaaatltaat ccaaccatat catattatlt cacggcgcgcg ggtaggaaaa 35580
 tgcgcagctg ttgtcgtltta cgggtgggaga gaagggacat tgtltatltc cagaactatc 35640
 tlttataact cccatggaac tltaaaaata atataatcat taltatagca ttagttlttt 35700
 tctgtctltt ttttcccaa gagcgccgcg cagaagagat cgatcgcgat ctccctgccc 35760
 cgacgtcgcc ggccgatctc tcattctctc cacgccctgc tctcgccga tctcctacac 35820

catccctgcc atctctctct tccccctccc tctatcctcc actggtgccg cccacctctc 35880
cgtataagac aaactgcggt gcggcggttg ttcccgccgg cgctgctgct gcacctgtca 35940
gctagggcag gcatggcgcg ccgcgcgcgt tcccgcgctg ttggcgccct tcgctcggac 36000
ggctcgatcc aagggcgagg aggccgcgcg gggggcagtg gcgccgagga cgcacgccac 36060
gtgttcgagg aattgctccg gcgtggcagg ggcgcctcga tctacggctt gaaccgcgcc 36120
ctcgccgacg tcgcgcgca cagccccgcg gccgcctgtt cccgctacaa ccgcatggcc 36180
cgagccggcg ccggcaaggt aactcccacc gtgcacacct atggcattct catcggttgc 36240
tgctgccgcg cgggcccgtt ggacctcggt ttccggcctt tgggcaatgt cgtcaagaag 36300
ggatttagag tggaagccat cacccttact cctctgctca agggcctctg tgccgacaag 36360
aggacgagcg acgcaatgga catagtgtc cgcagaatga ccgagctcag ctgcatgcca 36420
gatgttttct cctgcaccat tcttctcaag ggctctgttg atgagaacag aagccaagaa 36480
gctctcgagc tgctgcacat gatggctgat gatcgaggag gaggtagcgc acctgatgtg 36540
gtgtctgtata ccactgtcat caatggcttc ttcaaagagg gggattcaga caaagcttac 36600
agtacatacc atgaaatgct tgatcgagg atttcaccag atgttgtgac ttacagctct 36660
attattgctg cgttatgcaa gggctcaagct atggacaaag ccatggaggt acttaccacg 36720
atggttaaga atgggtgcat gcctaattgc atgacatata atagtattct gcatggatat 36780
tgctcttcag agcagccgaa agaggctatt ggatttctca aaaagatgcg cagtgatggg 36840
gtcgaaccag atgttgttac ttataactcg ctcatggatt atctttgcaa gaacggaaga 36900
tccaccgaag ctagaaagat ttttgattct atgaccaaga ggggcctaga gcctgatatt 36960
gtacctatt gtacctgct tcaggggtat gctaccaaag gagcccttgt tgagatgcat 37020
gctctcttgg atttgatgg acgaaacggc atccacctg atcatcatgt attcaacatt 37080
ctaataatgt catacgctaa acaagagaaa gtagatgagg caatgcttgt attcagcaaa 37140
atgaggcagc atggattgaa tccgaatgta gtgacgtatg gagcagttat aggcatactt 37200
tgcaagtcag gcagtgtaga cgatgctatg ctttattttg agcagatgat cgatgaagga 37260
ctaaccctta acattattgt gtataacctc ctaaticata gtctctgtat ctttgacaaa 37320
tgggacaagg ctgaagagtt aattcttgaa atgttggatc gaggcattct tctgaacact 37380
attttcttta attcaataat tcacagtcac tgcaaagaag ggagggttat agaatttgaa 37440
aaactcttgg acctgatgg acgtattgg gtgaagccca atgtcattac gtacagtact 37500
ctcatcgatg gatattgctt ggcaggtaag atggatgaag caacgaagtt actctccagc 37560

atgtttctcag ttggaatgaa acctgattgt gttacatata atactttgat taatggctac 37620
tgtagagtta gcaggatgga tgacgcatta gctcttttca aagagatggg gagcagtggg 37680
gttagtccta atattattac gtataacata attctgcaag gtttatttca taccagaaga 37740
actgctgctg caaaagaact ctatgtcggg attaccaaaa gtggaacgca gcttgaactt 37800
agcacataca acataatcct tcatgggctt tgcaaaaaca atctcactga cgaggcactt 37860
cgaatgtttc agaacctatg tttagcggat ttacagctgg agactaggac ttttaacatt 37920
atgattggig cattgcttaa agttggcaga aatgatgaag ccaaggattt gtttgcagct 37980
ctctcggcia acggtttagt gccagatgtt aggacctaca gtttaatggc agaaaatctt 38040
atagagcagg ggttgctaga agaattggat gatctatttc tttcaatgga ggagaatggc 38100
tgtactgcca actcccgcat gctaaaatcc attgttagga aactgttaca gaggggtgat 38160
ataaccaggg ctggcaccta cctttccatg attgatgaga agcacttttc cctcgaagca 38220
tccactgctt ccttggtata gatcttttgt ctgggggaaa atatcaagaa tatcatagat 38280
ttctccctga aaaataacaag tccittatag aatcttttag ctgctgaagc attttgcagc 38340
tttgaaatc tgtgttggaa ttcttttctc ctacagtcgg attagaggag ggatcttctc 38400
tgtatgtgta aatagcgagg tatgtatgtc acctctccga attatittga ctgtggttcc 38460
tggactgtaa acaagctatt atcttctggg gttgatgcca gaaaaaacac aaaagtittgt 38520
cgttatctct actaacggat cataaagggg ttgttaactg gagtttcaa ctttaaggtat 38580
ctaggcagta gttttgacat tagatccaac atttgttagt attcatttgt gtgtatcaat 38640
ctatagggtt tcattaaatt tcatttgtgt actgtttagg tgttgaatat attgttttac 38700
ttgtttttta actgaacaaa agatagctga agctttgttc tttaccaa atgcagtagtga 38760
tcatacaaat atattttttt acggaacagg agattgtata aaatggtttc catcggcggc 38820
caacggcgac cgctctgctc tgaccaccca cccaatccat ccatccactc gccgccgccc 38880
ctgateccaag cctccgcccgc gcgacagcga cgcaccgccg tcgagaggag gaggcgtgag 38940
cccatgggg accctcttcc ggccgcgtaa tgccgctgca cggttaaccac gcgcctctcg 39000
aggcctccgc cgctagctga tctcttctca tccgttttgg gtttgggttt gtgatttggg 39060
tgttttttcc gcagcgggtg tgggtgggtg ggttgcggcg ggagggggcg gtggccgcgg 39120
ccgtggcgtg gagtgccagc tgcacgggt gcaccgccgc cggggtccgc aggttgtggt 39180
ggcgacggcg agctgaggag gcggaggag actggtgagg gacacaggca ggcaggctct 39240
caaggctaag ctgtttacag gtactgagac tagttactaa ttactttgat aatcagtata 39300

aataagcttg tgtagtgtaa tggcattgtg catttctgca cttgttaaatt ttacagaaga 39360
tggtcattca atttgaacct gcatctaata ttttagtggt ttgagtttat tctcccagtc 39420
acagagt tga agaggcaagt aacctgt aag agaggactga acattaacac ctcttggttcg 39480
attaaaaatg accaaagagc atcaaacatg taticgaggc tgttacttta atatggccca 39540
ttaatttggt tagttggcta tgtacatcct agttgggtgca gtgttggtga aaacggaata 39600
cgggtgtcgg atggacgagg tgccgtcaag cgattaatcg taatacggat gattaaacgg 39660
aattataatgg atttttggcg ttgcactaa gatgtacata attgatgtta atggcaatgg 39720
tggagacaaa atgcatcatc ttaataaaaa atatttgtat aaatctctaa ctatattatg 39780
aaaatgccat ttattagttc aatagataac aacactgatg gttagtagcg caatagcatt 39840
gggccttgta gtcaaaatag tgcagctggg ctgcaagttg caagtttatg ttagtttcat 39900
aaacagacat ctgattgtc gataaataac cgactaatcg tgccatacaa ctgtataatt 39960
actctgaaat agtaatgttg ctccgacttg atgatacggc acggctctggc taccgtttcc 40020
gttttgacag acgattaaac ggctgtgccg gtgcacttcc acaacactga gttggtgtaa 40080
atgccagtta ccatttctat gatctaaaaa aatcaactct tttagtatat ttcaaaaac 40140
gaaaattcag tacacatgca tgaatcttaa tcttcataac tagctcgtaa caaaatcaac 40200
aaaggcaccg tgtcagctgg tgcacattag ctagtctgta cttagcattt tccactagca 40260
ccttattttc atgcataatc tgcataattg ctgtcccacg ttgagtggga atttttttcc 40320
atgttttata atttatatat gttctagact tctacttcat gttcctgagc ctctagtatg 40380
gctggtagca gactagggtc tgaatgctgt ccttttttgc agactgaaga gaggagaaat 40440
acaagactgt ccgttgttag tcagatttgt aaaaatagac actgatgtag ttatattttg 40500
cccctatttt atatttaaca atacaaatat ataacgtatc ctaagaattt atcgtaattt 40560
aggagaagtt gctcgtttca ttaaattaaa ttgggaagta aaaatgtgtg ctcgagtatg 40620
tcaatgcaat cctgtgttct tgtttgaaga tatgggtgtg ggcaggccag gattgaacac 40680
tgaatggtaa gactgcctct gctttcagac gttatgtcta aatttttagc tagttgcaat 40740
tagtgcgtc acgccgatta agcagtagaa caaagtaatt ttgtcgtgac aaatgagtta 40800
tatttctttg aaaatcgaag cgaaaacgaa ccaaagata gaagaaaagg gaaacttggc 40860
aattactcca caaagagaac aaatttatgt gtaagatttg atatgagatg ctcgattact 40920
tggcttaagt taacaatatc aaatttgggg aagcaccaaa agaattatgt tgacttaagt 40980
taaagatatc aaatttgggg aagcaccaaa ggaattatgt tgatggagtt gtgggtgcat 41040

aacgttat ttt gctttgttca aatcctagtg actatgaata tgaatat taa tgcgtaaggt 41100
aaggaattta ttgttaattt taggttcttt acgatttgtt ccggggacgc cattcggtaa 41160
ctgtaataat gttttgtatt ggattcactt gtgttacatg cacgcactaa acatgtgctt 41220
tacctttica tttgtttgtg cgttctgcgt ttgaatttga cgagattcca tggtcagctc 41280
aacaatgtag ttactgcgtg tcaagcagtt actgcgtgtc aagcgatctt atatggatg 41340
cgacaagcg atgtatagc gatatgacag tataacgtgt gatattgatt tttttatata 41400
aaaaaatagc atgttacttt ccttcataaa ggaacaaaga cttttttttt aaaaaaaga 41460
aggggtatta ctaaaaacaa aaatgicaaa aacaaaatat cagtgcacat ggcaagtgtg 41520
ctcggcaatt ttttgtctgt actttaaaca aaaatat ttc tatatggat tttttacaag 41580
ggtgtcacia atatttttaa ttagccaaac atctgcattt tattaaaaac tgtataaatt 41640
ataatttata ctctaaaagg ttgtgtacat ctctcttgga gaaaatgtat aagttgcgaa 41700
caaacattaa tccacgttat ataagtcatt ctgttattta accatagaaa gtaagaaacc 41760
tactagcgtg ttaagctaag ctctctttca ttctctttct tcttcttggt tttgttcaa 41820
tcacttgica agtgaagggt tcttaactac cattactcct actcaccaa ttttttctc 41880
agatctttcg taggtatata ttgatcctac atcttatgat ctttaagatga tatecttctc 41940
attatccctt gctgaaactt tagcttgaac cgtcatctac accacaattt gagcccccta 42000
gcacagagca caacgagcaa tagcttgccc ttacgttcat tatttagcat gcactactac 42060
taactacca ataataata catcggttat taaactgttt gtacagt tta ataagtcat 42120
ttiatcacgt taacatatgt ttcat tcaac accacaccgg ttttggcaca gttgcaaact 42180
tgcaataaca tttttactac ttctccaccc cataatata caatctcggt ccatactaga 42240
ttgtatattt acgggacgga tgaagtactt ctttcttctc aaaatataag aatatgtac 42300
tagattagat attatttggg ttacagaaat tgattaggct atctagattt gtagtcgtac 42360
gtaatgtcta attcggtaat aggttat ttaac ctctttggat ggaggagta gtttttattt 42420
cgtactccct ccgtttcata ttataagttg ttttgacttt tttcttagtc aaattttatt 42480
gagtttgact aaatttatag aaaaaattta gcaacattta agcaccacat tagtttcaat 42540
aaatgtagca tggaaatata ttttataata tgtttgtttt tttattaaaa tgcactata 42600
tttttctata aatgtagcca aatttaaaga agtttgatta cgaaaaaaaa tcaaaatgac 42660
atataataig aaactgagga tgtagcagac tatagcaaat ttaaactatg cttttatttt 42720
agagcatcac caaaagatta gcaataattt atccctaaaa ttcaagtttt gggtttctta 42780

aactgaaaat aggaagtga aaatcttttc cgtccaagag atagcctaaa tcttatctta 42840
actaattaaa atattcataa ttttcctttc gtcacattaa attttcgtcc gtaaateccga 42900
ttgaaatcca attggacaat ccaaaaaata gagaaaaaga acagaaaaaa taataaaaag 42960
cacacaaatc ttatctcaat cccgcgggaa gctgccgacg ccgccgaatc cgctcgagcg 43020
ccgccgccgc cgccgccgct cacggggaac gatgtcgtcg ctgtcgcacg cggatggga 43080
gggcgccgcc gccgctgctt gggagatagg atatggagag agaaggaaat gtgagggagg 43140
gttaggtttt tccccatccg tatcttcagc gacacggagg cgatccaagc tgtccatcag 43200
atcggacggc tcagaacgcc tccatcgtca ggccgcgcgt gcttgatggg ccgagggaag 43260
gccggagggt cgaacaaacg cagtcagagg aggagttaga ggaggtaaag tagaatttat 43320
ttgcgggctg agatagtaaa tggactgaaa atggcccata gagaaattgg gaattttatt 43380
taaataaatg ttgaaaaggt gtttatatta tcaaaattag aaattaagct ccgaaaattt 43440
taaaaaatat tcaaagagca ttattaatca tgattaatit aataaaaaat aaatccaacc 43500
atatcatatt atttcacggc gcacggtagg aaaatgcgca gctgttgtcg ctgacggtgg 43560
gagagaaggg acattgitta tttccagaac tatcttttat aactcccatg gaactttaaa 43620
ataaatataa tcattattat agcattagtt tttttctgtc ttttttttcc ccaagagcgc 43680
cgcgcagaag agatcgatcg cgatctccct gccccgacgt cgccggccga tctctcattc 43740
tctccaagcc ctgtcgtcg ccgatctct acaccatccc tggcatctcc tccctccctt 43800
ccccctatc ctccaciggt gccgcccacc tctccgtata agacaaactg cgttgcggcg 43860
ttggtttccg ccggcgctgc tgcctgcacct gtcagctagg gcgggcatgg cgcgccgcgc 43920
cgcttcccgc gctgttggcg ccttctgctc ggacggctcg atccaagggc gaggaggccg 43980
cgccggggggc agtggcgccg aggacgcacg ccacgtgttc gacgaattgc tccgccgtgg 44040
caggggcgcc tcgatctacg gcttgaaccg cgccctcgcc gacgtcgcgc gtgacagccc 44100
cgccggccgc gtgtcccgt acaaccgcat ggcccgagcc ggccggcagc aggttaactcc 44160
cgacttgtgc acctacggca ttctcatcgg ttgtctgtgc cgcgcgggcc gcttggacct 44220
cggtttcgcg gccttgggca atgtcattaa gaagggattt agagtggacg ccatcgctt 44280
cactcctcig ctcaagggcc tctgtgccga caagaggacg agcgacgcaa tggacatagt 44340
gtccgcaga atgaccgagc tcggtgcat accaaatgtc ttctcctaca atattcttct 44400
caaggggctg tgtgatgaga acagaagcca agaagctctc gagctgctgc acatgatggc 44460
tgaatgatga ggaggaggta gccacctga tgtgggtgtc tataccactg tcatcaatgg 44520

cttcttcaaa gagggggatt cagacaaagc ttacagtaca taccatgaaa tgctggaccg 44580
ggggatttta cctgatgttg tgacctacaa ctctattatt gctgcgttat gcaaggctca 44640
agctatggac aaagccatgg aggtacttaa caccatgggt aagaatggig tcatgcctga 44700
ttgcatgaca tataatagta ttctgcatgg atattgctct tcagggcagc cgaaagaggc 44760
tattggattt ctcaaaaaga tgcgcagtga tgggtgtcga ccagatgttg ttacttatag 44820
cttgctcatg gattatcttt gcaagaacgg aagatgcatg gaagctagaa agattttcga 44880
ttctatgacc aagagggggc taaagcctga aattactacc tatgggtacc tgcttcaggg 44940
gtatgctacc aaaggagccc ttgttgagat gcatggcttc ttggatttga tggtagaaa 45000
cggtatccac cctgatcatt atgttttcag cattctaata tgtgcatacg cttaaacaagg 45060
gaaagtagat caggcaatgc ttgtgttcag caaatgagg cagcaaggat tgaatccgaa 45120
tgcagtgcg tatggagcag ttataggcat actttgcaag tcaggcagag tagaagatgc 45180
tatgctttat tttaggcaga tgatcgatga aggactaagc cctggcaaca ttgtttataa 45240
ctccctaatt catggtttgt gcacctgtaa caaatgggag agggctgaag agttaattct 45300
tgaaatgttg gatcgaggca tctgtctgaa cactatitc tttaattcaa taattgacag 45360
tcattgcaaa gaaggagggg ttatagaatc tgaaaaactc tttagagctga tggtagctat 45420
tgggtgtgaag cccaatgica ttacctacaa tactcttate aatggatatt gcttggcagg 45480
taagatggat gaagcaatga agttacttct tggcatggct tcagttgggt tgaaacctaa 45540
tactgttact tatagcactt tgattaatgg ctactgcaaa attagtagga tggaagacgc 45600
gttagttctt tttaaggaga tggagagcag tgggtgttagt cctgatatta ttacgtataa 45660
cataattctg caaggtttat ttcaaaccag aagaactgct gctgcaaaag aactctatgt 45720
taggattacc gaaagtggaa cgcagattga acttagcaca tacaacataa tccttcattg 45780
actttgcaaa aacaaactca ctgatgatgc acttcagatg tttcagaacc tatgtttgat 45840
ggatttgaag cttagaggct ggactttcaa cattatgatt gatgcattgc tttaaagttgg 45900
cagaaatgat gaagccaagg atttgtttgt tgccttctcg tctaacggtt tagtgccgaa 45960
ttattggacg tacaggttga tggctgaaaa tattatagga caggggttgc tagaagaatt 46020
ggatcaactc tttctttcaa tggaggacaa tggctgtact gttgactctg gcatgctaaa 46080
tttcattgtt agggaactgt tgcagagagg tgagataacc agggctggca cttaccttct 46140
catgattgat gagaagcact tttccctcga agcatccact gcttccttgt ttatagatct 46200
tttgtctggg ggaaaatatc aagaatatta taggtttctc cctgaaaaat acaagtcctt 46260

tatagaatct ttgagctgct gaagcatttt gcagctttga aattctgtgt tggaattctt 46320
ttctcctaca gtccctattag aggagggatc ttctctgtat gtgtaaatag cgaggtatgt 46380
atgccaccct tccgaattat ttttactgtg gtccctagac tgtaaacaag caattatgtt 46440
atgctgttga tgccagaaaa aacataaaag ttgtgcttta tctctactaa cggatcataa 46500
agggatttgt gactggagtt tcaaacttaa tgtgtctagg cagtaatttt gacattagat 46560
ccaaaacaat ttatagggtt tcattaaatt tcatctatgt gtactgttta ggtgttgaat 46620
agtgtgactt gttttttaac tgaacaaaag atatgtctga agctttgttc ttaccaaat 46680
gcagtactga tcatcacaat ataattttta tggaacaaga ttggattgta tagaatggtt 46740
tctgatctga ttatcttate tcaacgtatt attatgcaca tgtactaatc atgaaatate 46800
tgatggaatg atgtttctat ttacctgtgt gaggcagcaa ggagtgagat ggataacacc 46860
acatactccc tctgtcccag aatataagaa gtttttagagt tggacacgat tattaagaaa 46920
gtaggtagaa gtgagtagtg gagggttgtg attgcatgag tagtggaggt aggtgggaaa 46980
agtgaatggt ggagggttgt gattggttgg gaagagaatg ttggtagaga agttgttata 47040
ttttggggag tacattatta ttctagaaca atactgttgt gctcaagaag cgttccaaag 47100
atgtttcaca acctgtgctc gatgggtttt gagcttaate ctgggacatt cagtatcatg 47160
atctgtctca ttcttaaaca tggaataaag gatgacagca tgatttcttt gtctctataa 47220
tcttttggct acccacagat aatagctgta aatctatact actttaaaag gagtagtgggt 47280
ggtggtagt ggtgaatctg ccaccacccc accaccaact ctcaaaatc tgacatgtgg 47340
gatcactgtc aatcccttct ccaagacatg tgggatcact gtcaatccct tctccaaacc 47400
aattgtatga tagaacagtg gaaatcacgg acagaccatg gagctctcaa ccataatcat 47460
ccttgcgagt taataacaaa tggagcgtaa acttggcaag caaaaaactc aaattaattc 47520
taaaattaag ctctaggatt caaaatagat ttccctctctg cattgtgctg ttatgatttt 47580
taattccgta acaacgcaaa tgcattttgc tagtcttata aagaagggtt aatgcaaata 47640
ttctgattaa atgattgtat ctatgaagtt tgaatgctag tggaagctcc tttgaccatg 47700
ttttgttgtg cgagcattta agagagtga gagaatgctt ctttgggtgct gttctgggtat 47760
ggaaggatcc acagataaaa ttcaggttct actgcttctc tgcttgtaat ttcatgaag 47820
ctgcagtga taccitgttg accacttgat ctgttgcttt gaaggagaat atagtagtgg 47880
ccaaggttgg tgacggtgat ggtggcatgt gatccccag atcttcagt acccagagag 47940
gaggggacgg cgcgtggtag gctacaaggc atactcagt gagggcaaga tcaaggcctc 48000

ccgtccgtag gggactccgc tgcatacaagg ccaactgctc cgaactgatac aatttctggt 48060
acggatacact tctcctttcc tttttttttt caccctaagc actctcttga ttcttcgctg 48120
ctaccicccct taatttcttt caataatattg tggcacttga tcatggcgga gaccacacctt 48180
ccagtgtgaa tggattttgt caaagaacta aatttatcc attagcttat ttccgatta 48240
catggaagac attcttttct ggaataaata cagaactaaa tcctgtttcc tgaataaaag 48300
ttgttagtgt gtggcatggt gcatttccgc gcttctaaat ttataaaac ctgttcattc 48360
aatttgaacc tgcataccaat ccaatatattt aggtgcagac aggtgcttgc ggtcaggtta 48420
aagaagtigg caaaaatgct tctgaagaaa ggtaaatgtt tgtttcatct caggaggtaa 48480
tatgcagatg attattccaa ttggcattgc ctgcccattt ttatcacgag tctttacaat 48540
tttataicct cctacataatt ctttccagat tccagatgat ccagtgtctc caacaattga 48600
ggcgcttatt ttgctccata gtaaagtaag tacacttgct gagaaccacc agttgacaac 48660
acggcttggt gtaccatcaa acaaagtigg ttgtattctt ggggaagggtg gaaaggtaat 48720
tactgaaatg agaagacgga ctggggctga aatccgagtc tactcaaaag cagataaacc 48780
taagtacctg tcttttgaatg aggagcttgt gcaggtaatt tatttggcca tacctacacc 48840
agagatccat atattacttt tataactgca gtttttactt gttaacattt catttgtctt 48900
ttacatttgt tccaagcttt caggttgctg ggcttccagc tattgaaaga ggagccctga 48960
cagagattgc ttcgaggctt tgaactagga cactcagaga tgggaagtct tccaataatc 49020
cgacaccttt tgccttctgt gatggctctc ctgttgatat ctgtgcctaac aagggaattca 49080
tgctatatgg acgatctgct aatagtcctc cataatggagg gcctgctaata gatccaccat 49140
atggaagacc tgccatigat ccaccataatg gaagaccaat atccacaata tgggaagacct 49200
gccaatgate caccataatag aagacctgtc aatgatacat cataatgagg gtigaacaat 49260
gatgggcctc gtgatcaggc ccggtcctga ggggggtcga atggggcgat cgctccgggc 49320
cccccgattc ccagggtccc caccatctgt tgcacagagt agtagcgatc ttccagcgcg 49380
caacgtgagg cgatgttctt ccgtgatttc gccggcctgc aactgcgaga tcgcgagtat 49440
aacgatcagc cgatcgatct catctgccga ctgccatgct gatgccacac gcaagcgag 49500
cataatcagc ttatcttgggt tgatcggcat gctggacgag cacatctgtt gtcgcatcaa 49560
ctgctgactg ctatataatgt gctgggtgctg aatcgatcga ttgtcgtcac ggaagtgaag 49620
aacaaccacg gcactgcctg ctgctgggct ctagccgcca tcagtaagta cgctatactg 49680
cctatctaga tctagatcga gattacatag tgggaattatc tgtttataac aaaattacaa 49740

ggatcaatt gataatttaa ggttataacc gtacaaactt cagtgatttg ctggtttcac 49800
attggttaga ttigtittcaa ctaatttggg acttctgtag ccttgtaatt tacgaatcta 49860
gtattaatat ttictttaagt attagcctgt tccttgatai tatgctgttg agaaagtatg 49920
caatagataa caaaaacaag taggtgtgtt gaggatgctc aagagtaata caggcacttc 49980
aataattctg atattatcag gacatcatca ataattctgc gcctacaaat cttcaaagaa 50040
aattttaata taatgcgtat gatttttttaa atacgaatat tgattgctat tttaaagatat 50100
ttataattata tggtaattat tatttgaagg ttataataa aggcctccgt ttttagtttc 50160
acgctgggcc ttcagaatct caggaccggc cctgctcatg atccttacac cgtgtatcct 50220
gtagagtact tctctaaaag agagtaccct agtgggaagta gcaaagtigc accatctgct 50280
tcatacgaaa gatatgcagc aactactcgc ttgcctaata gagaactgcc ctcatctatt 50340
agtccctggg ccgattatat gtccctgccgt tcttatcttg accaagtacc tactgatagg 50400
tactctaata gggttacact acaattaggc ctcttgagag ccgggaatag taatgtgcaa 50460
caattaggaa tcaccagagc tggaaattcc aatgcttatg attatactga ggtacatttc 50520
caatgcgtta gcttgccctc tctttgcaaa tggccctcgc ctgatatgtt tccattagaa 50580
acatgaaacc atataattga ctgttgcatl atgtctatlt tcttccatga tggttcagac 50640
gtctgaaaaa aggacaaaaa tattctagaa tatgtcatgg tgatccaaat atatccttct 50700
gtcttgtgcc cactctaata tctatcgttg gtaacactat tcaattgtta ccatgttgtt 50760
gcaaacccta gattcagtta ttcagctgtt ctctgctgct gttgcttacc agttttctta 50820
gttgggtgtt gatcttttct catlttttat ttccctgttt cctggttcac ctgctgcctc 50880
tctgatgcat ctgaatgtat atttttgttc tcttcagltc ttaatagatt taaatttcat 50940
tcttttcagg ctgcggagct gatccatgga cgtgaggatt accgaagact gtcaggcttc 51000
actgggtatg gcttacgcag actgaatttt tacaggacac aaacatgaat ttgttcctca 51060
taatcatlga gtgatgatct ctttgcaggt atccaggltg ctctgtcgaa ttgtggattc 51120
caaatagtta actggagtct gtcattgggt ttgggtgggt caatctagct gagatccgtc 51180
tggatatagcg taagagaaac atcatgcact atccccagtc ataaccatgc cccaatggcc 51240
accaatagtt ttctctgtga aaatctcccc ttgatcccag atctctgggt cgagagtga 51300
gttgcacgaa gcccatccgt gttcttccga gtccattgtg gagatccagg gcattccgga 51360
tcaagtgaag gccgcacaga gccttctgca aggccttcat ggcgcaagca gcaacagcag 51420
gcaggcgccc cagtcctctc gcatggccca ttatttttag taagctggag gacattcgca 51480

acaggggggt cagtgggtcac tgcaaagctg agtttgttct tcagttcaac tgcagaaaat 51540
tgcagatcgg ttgccgtagt tgctagaacg gtacatagtt gccacctaac tgtagcgagt 51600
ggcataactt atttgttgtt actgcccact gttgtctctc ctltgtgttca tggattcaga 51660
ctltgtgttg tagtatttct ggatcagact ggagtaaaag aaaaaaaaaa aggaagacat 51720
gggtttaaca gtaagctcaa aacgttgaca gtagtaaaat aaaaggggtt tgttcacttt 51780
atttccaata tcaaccttac caacatttgg cgttgaatca tttataccac atcgcttgtg 51840
cagctgaatt tggggctgtt taaaagatgg tctcttggat tgctaattgc ctgcgagcaa 51900
gcgtgggtacc ttgtacaata taaatataat tataactatt taatttcata attaaacatg 51960
ttgttacaaa tctctactat tataaaaaat gaagatgttt ttgtccggtt ttttggttacg 52020
tcatctgtgt atgaatccgt ttttaagttc gtttgccttt ggaaatacat atctgtattt 52080
gattcagttt ataagatcgt tcacttttgg taatacagaa ggaatcataat aagaattctg 52140
tttaaaaaca ctctgatagt aacttgagac gatcagacgc ctaactacag ctcatgattt 52200
tctaaatata tatatatata tatatatata tactagaaaa aatatatgtg tgttaaaagc 52260
tattttaatc ttattattgt tatatatatt agttaacaag aaatctattg tgggaacttg 52320
tttggatata tattttttta aaaaaaatca tgagctgcaa ttaggaatcc aatcgtctca 52380
agtttagcagg agggcgagtt tttttaaaga gatttcttat acgatttctt ctatatltct 52440
aaaagcaaac gaacttaaaa accgactcaa acatggatct gtatttccaa aaacgaataa 52500
acttaaaaac cgactcatgc acagatgatt aatttttata atagtagaga taaacgaact 52560
cccacagtga attttatttt aactgaacca tataacaata ataagattaa aatagacttc 52620
accgttgca atgcacgggc atttttctta gtttaagaag aaataaaaaa acacaaaaat 52680
ttataaaaatg taaaaaagaa aaatatata attttgttag aattattatt ataatataga 52740
aaaatagtig ccaaaatttc tcaacgaatg tcgaataaac tcagcaatgt catatattta 52800
aatatgatgg taatatltgt tcgcaaaact ttaatcttca atccttcaac aacatagata 52860
tacaacgtcg taatcgccaa caagcccag tgaccataca ggatagccga gcggtggatc 52920
tgtactgttc ttgggtgaaa taaatctagt acattgtata tcttatctta atatctacta 52980
ttataaaaaat tgaagatatt tcttcaaaga ttccatacgt tctctactc cgttacaata 53040
tcggttctac tccgttacia tateggtttt gtacaccccg cgcacgcgtt gtgtgttctc 53100
ccgttccaat acatgaagct agagtcitgc ttctccctgg tctggcaggc cctttttcca 53160
ccatccccac cagggccagc gggttacatt gaccgatcac ggcccacatt agtggatgca 53220

gccagccacg ctcttcacaa atcatgtgat gaacattagc tgagttaaaa tttatccttt 53280
 gatgatigtt agaaatgttt tttctctccac atcttctctt tcaattttgg aaaaatagat 53340
 ttcttgattt ttgtgctcgt acatcactaa taaatcagtt gttacccttc cacacattgt 53400
 caatttacca tgtctatttc agctcttacc ttgtatagtc ttgactcttg agtcctcgct 53460
 attgactaag ttgctacatg cctcctacaa atcaatagac tgccataaca atattttctta 53520
 cgacatgac catattagtc catgcaatgc aagtacacac acactactgc acgaaaaaac 53580
 tatgcacat aacttcaaaa ctaacatgtt agaatgacgt taatttttca ttacaattat 53640
 attcatcgac cgttaattta ctaggcatcc tgttttaaaaa aaatattcac cgaccatacc 53700
 cacatgttcc gtagttcatt aggtgatgga tcggtagtta cagcagctgg atttttatat 53760
 tttgggtcatt ttgaaaaatt tatttcgcaa atagactcct gaaaaaactt atcccagaaa 53820
 tagtcccttt tggagcgta gagtggctgg cgccgtggtc caacgggaca gcgccaacct 53880
 ctctggcgcc gcccccgcc tctattcttg tttctctata tagagttgca aactttttat 53940
 ttttgtttta tttttttgga tgttttttca ctcttagaat cagatacaa ccaactacaa 54000
 aaaaaattaa actcgaacgg aatatacac ttagctagaa gtctgaaaat atagcatacc 54060
 acttatctac ttigcaccit caccaaaatt agaccataac ttcttttagta aaatcctttg 54120
 atcagcata taaacataat gcactctatc actaggtgaa attacttaat ctaattcaaa 54180
 atataactac atgtagcctt gaaaaattct acatgccaca tatttcgtcc gtttgagttt 54240
 attattttta tggttcgttc atgtgagttc ccaagtgta aaaaaaata aaataaaaat 54300
 aaaaaagttg cacatcctct cctctgcatt agagaggaga ggagaggaaa aattctacag 54360
 gtcacatatt tcgtccattt gagttcattt tttctatggt tggttcttgt gtgttcctaa 54420
 gcgtgaaaaa aatatcaaaa aaataataat aaataaaaaa attcgggggg ggggggcgcc 54480
 agccactctt aggggtgaaa acgatcggat aatatccgat ccaatctgct ccgaatccat 54540
 ccgaaataag gatatgglat gggtttttag aaatctggcg gatatggatg cggatgagga 54600
 tatggatatc ccgaaatcgc acggattatc cgacattttt gtcggattat ccgataggcc 54660
 ctttaccgga taatccgaaa ttatgaacac atgtaaccac tctatctatt gcataaaca 54720
 taagttagtc catccaatga cctaattcat caattaccct agatttctta ctatgtggtt 54780
 ttaccattt catgtcacac ttgcgtagct gtatttttat aaaatggaca tcatgtattt 54840
 atgttgitta gcacttaagc acataattat tacaatgggt cgtttattga catgtgttta 54900
 tttttacttg cattgctaac tcaatgttgt attgattgca tacacacgta acatctgata 54960

aaattttaatc cgttttctgaa ccgattccgc accatttccg acatctgcat ccgtacacta 55020
tccacacca ctccgaatcc gcttaaaaaat atgggttagg atatggtaig accactatcc 55080
gtccgaatcc gctttatttt cacccttagc cactctggcg cgcttccctt gccacctcag 55140
catcgtccca ccacgtcggc agaaggacgg cggctccagc cactctggcg ccacaaaaaa 55200
ggaccatttc tagcataagt ttttttaggg gtctatttac gaaataagtt tttaaaagga 55260
ccaaaatgtg aaaaatccag gttacagcag actgtgataa gcaatagcta tatigcctat 55320
ataatacacgt atatgcattg ctaatccttc aattttgtcc aattctttta aattgtcttc 55380
acctgttgca acgcatgatt ttttttctag tcttaacctt aactaatctt aataactaac 55440
taaaagattc gtatctttcc gatcgtcacc ttgtccatac gctaattttt cgtccgtccc 55500
ccctcccccct caaaaaaaaaa gggaaaaatc cattttacac cctcgaactc ttaigcttgt 55560
ctaaaataca cccccgaact ataaaaccgg gtataatata ccctcgagct atcaataccg 55620
gacagticaa ggggtgtatta tacttggttt tgtagttagg ggggtgtattt tagataagca 55680
taagagtcca agggcgtaaa tggacttttc ccaaaaaaaaaa atcccagtcg ttactttcca 55740
tcctgagaat cggagacagg gaaaactgaa gcatacacgc aaatagaatc aaagataggg 55800
aaaactaagc atatacacac aaatataatc aaaaattccc atgcagctag atcgggtgcc 55860
accgttgttg ccaaaccacc acattgcaat gttaaactaa gactaaagcc taaatcctat 55920
gctaagtcat caaattagac tcggttctac caatttggtt atatatcaaa ttagacttga 55980
tttttactga tttgaggttc tcgagggtgc acactatgaa acggaagttt ttcccgttgc 56040
aacgcacggg cactatgcaa tatcttaact aattaaaaga ttcatatttt tcctttcgtc 56100
acaccgatct ttctgtccgtc tgtaacatca cgtgcacctc ctctccaaat cccacatcat 56160
cataatccga ccaaaaaaca aaatctcaat ctcaatccaa tcagaatcat cacaaaatca 56220
tccaaaatat caagagatga ttataggaga tggaggggtg agcaggagca acatcatcat 56280
cgcataaaaa ccccaaaatc aatcacaca acgacatcat tatcacataa gaaaaacaat 56340
acaaacaaca tacacaatca acaacactgg cggatccagc cgaggggaca acggcgtggc 56400
agcgggcaga tcctctcggg cagatccgcc cacgggtgcc actgacgtcg ccgccgccac 56460
cggatccaag ggagaagctt cggacagagg gagagggggg tagaggaccg ctaaattccg 56520
ccaccggaaa tgccgccgcc accacctccg tcggatttgc ccgagggagc gccgatgccg 56580
ccaccgccat cgcggggagaa gcttgggcac ggaggggtgag gaggaggggg ggtagagaat 56640
cgccggatcc atccgctgga aaagcctccg ccggatccgc ctgccggaaa caccggtgtc 56700

gccgcctccg ccggattcgg tagcgggagc cgccgatgcc accaccgccg ccggatccgg 56760
tcggtgggag ccactgacac catcgccgcc gccctcctctg ctaccgacaa gggagagacg 56820
agaggggcgg gggcgagggc gggggacgag aggggttagag ggagggaccg agtgggagag 56880
agagggacga gtgagaggag ggggacgagt gaataaggat gcgtgacctt atccactcgc 56940
gcggtcgcac cccggctctt tctctcgtc agctgttgcg cttgtggaga ggatgcgaga 57000
tttttttttg agtaaaatgc acgggcggtc cttaaaccttg tagcggctctg tcactctaggt 57060
tcccaaactc tcaaaatgca tatccaggtc ctagaatttg tcaaagtgtat tcactctagat 57120
cccaaaccga cacatcctct cttggatcct acatggcgct aatgtgacct gtcacatgga 57180
cgtgacacgt cttttttttt cttcttttct tttcttttct cgttttcttc tcattcttct 57240
ttttttccat cttctgctcg ggtcacatag aaaggaaaag aaaggaaaat acaagagaag 57300
aaaaaaagaa aaaagaaaat ttttaaatgg gtctcattcg tcagtcaaaa ttatgccaca 57360
tcatgtccct gcgacatgcc acatcagcac cacgtagcat cctgaagggg ttgtggcgat 57420
ttgggaccta aatgacacac tatgacaagt tctaggacct ggatatgtat tttagagatt 57480
taaggattta tatgacacac tactataagt ttaaggaccg cccatgccct ttactttttt 57540
tttttacacg gagagaatgc gaatttgttg gttagtgtcg gctgagggtt tctcgcacgg 57600
agaaatttgc ggtgggagaa ttttttttcg aggttcttctc tatgggaga agacgggatt 57660
atagggatta ttactgggtg ggtggccctt gtttcttctc tttttcgagc ttctttccgt 57720
taaattcact tttctctctt caaggagcgt aggacatgac tgaatgcagc tgctgtaaat 57780
tagaaataaa aaagaaacat attctgtttt tcattttttt caataggtat atataaagat 57840
ttttaagtaa tttttaaaaa tatatagtc tgatcaacga cattgttaag tgagattttg 57900
ctgttactat cacttttttt tccattgggc tcacgtacgg cattaaaagt tttagttttg 57960
gttctctcct tttagatttg ggcatatacc aatatigaga taggtatctt aaagttcatt 58020
tggattttat tcgattcaac ttttttgggt ttgttctagt tcttttttac atgtttctca 58080
tctgaaatta ggaaattagg tttaggtaaag tcttgaatag ataacgctgt tgacgtttga 58140
acatatatit atctatttat ttatttaaaa atatatgaat aatttttatt ttgttatgac 58200
ttttgtcggg gacatgggac cgggagatc atgactagag gcttgggcag gagcgatcac 58260
ccacgtggcc tgatgtaaca tccatgaaaat tcccaacaat aaaaatcact aaaattttga 58320
actttttaaa acttttgcct catgctgggt gttatgattg ctattgcttg ccaaaccgta 58380
aatgatcaca aagaaagtaa agtaaggatc taaaatttaa gtaatatata aatttacgag 58440

aataataat ttaattgcta accctacaaa taattacgca caagaaaaca aagccagaca 58500
aacggaaggt taattactaa tttaaattat ggattaatta tttaaatactt gaaccatgtg 58560
ttgcgtgcc a tggcatctaa atacacatga aataatggtc atataattaa attaagcttt 58620
ataaaattat gtgaggtttt aattaagcaa ttagcttaat gtltgtaccga gtccttaatat 58680
actatittata gaataaataa attcaacct a tccgtgtaaa atataattgct ataagttcat 58740
tcaatgtact attgtataaa taatggccac attaggatat ttttaattaat ttltggaacct 58800
tcaaagcctc caaaattatc taggttaatt ttgaaattat acctcattta agtaatgcaa 58860
tagaaaaata tacataaaaa taaaatatgg gtaatatlag aaattgagta aattttcatc 58920
taaatataaa catatatagg gtaaacctcc tttatgtaaa aattaagatt tatagaatga 58980
aatttgtaca agggataaac taaaatcggg ttaaataga aatggcactg ttcatgtcac 59040
tctagggtgt cgacgtggtc cctggcccta ttttccccct cagccgcgcg cgccgtggctg 59100
cctcgcgccc cgcgccacgc caccgcgtc gcgtcgcgcg tgcgcgcgcg tcgccgtcgg 59160
ccgttcgcg ccgtcgtcc gtgcgtccgc cgcctcgcgc ccgcgcgcgc gtgcgtcatcg 59220
cgtcgccgtc gccatcacgc cgcctggccg cccctgacct cgcgcgcgc cgcgcgcgtc 59280
cgtagccgcg tgcgcgttcc atgcgcgtg ccgcgcgcgc cgcgcgtcac gcgcgcgcgt 59340
cgtcgcgcgc gcatagcccc gcgcgcgcgc gccatcgtgt cgcgcgcgcg tcgcgtcgt 59400
ctcgagcccc gcatccctct cgagccccgc agtcgcgtc ttgtcgccgt tgcgtcgcg 59460
tcgtcgtcgc cgatgtgtc gcgtcgccgc tgcgcgccgt cgcgtcgcc tgcgccccgt 59520
gccgcgcgt cgcggtgtc gctgtcacct tcgcgtcccg cctcgtgccg cgcgccaccg 59580
ctgccgcccc gtcatcgccc gtcgtcgcg cgcgcgcgcg ccgtcgccgc gccgtcacgc 59640
tcgtgtcgcc gtccgcccgc cgccttgagc cgcgcgcgc ccgtccctc gcgcctcggc 59700
ccgcgcgcac ggccgtcccc tcgccgtcgc cctgcgccac tgcgcgcgcg ccgtcccat 59760
cgcgcgcgag ccgtcgccgc cgcgcgcgtc gcgtcgcccc gccgtgtcac ccgtcgccg 59820
cctcgagcca cacgcgtcgc gccgtcggt cgccattagg gccggccacc cctttccccg 59880
cgccctataa aaccccccg ccacccccct ttacccccac accatcccca cccattcccc 59940
tcttctctc ctcttcccc tcttcgtccc ctccaccgcg ccgcgcgcgc gccctcgtgc 60000
cgccgcgcgc tgcgccgtc tcgcgcgcgc ctgcgcgcgc cgcaccgcgc ccttcgtgcc 60060
gccgcgcgt gcgccgacgt cgtgccgcgc tcgccgtcgc cgtcgtcgt ccgcgcgtgc 60120
cgtcgccgtc gtccgttaag cgcgcgtccc tccctcgttc cgacgcgcgc gccgcccggg 60180

tgggaaggag ccgagagaga gagggaggaa ggagccggga gtaggaagaa agaaaagaaa 60240
agagagagag agaaaagaaa agagaagaaa agagaaaaga gagaaaagaa aagaaaagag 60300
attagagaag ggaggggaaga gtggggcccca cctgtcatta gcccacatcca attcccctta 60360
gaaaaataat tctgtagaaa agaaaatcaa gatcctgacc ccacctgtca gtcactatag 60420
cgtgtggata aggttgtatt aaaaataaat gaattaggaa cagtactatt tcgcaactat 60480
tagaattaat tcaaatttga atctttacac tagcataact aattcatttt agctccgatt 60540
tgagtggaaac ttgaacctaa attcatctaa attcataagc tttccaatgg tatataattt 60600
actattaaat aaaatatatt tataattatt aagtaattaa tatcatatga ttaggttatg 60660
gtcaacttaa aaatatgcta ataaataaaa ttagtattgt ggatgtaata atatttgtct 60720
ctaacatgtc ttgccactgt aacaaccaca caaactaata ttaagtgatg tctgaaatga 60780
atgaatgaat aggaaaatac tagtacttgt ttaatatctg atagccatat aattaaacc 60840
atggcittata ggttatttaa atcaaatgta gccttgtgat tatgcaacta aaatataaac 60900
acatatagat gaatctttag cttagattagg aggaataata acagagctag tgtgactagt 60960
tatgatatag cttgttgtcg gttgcctata tttagtaaat ggttcaatgt taatacactg 61020
atgcacacac ataccctttt tgataaccta ctagttgcat atattaaact tggtaataaa 61080
tgaagaacca atatatagc taaatactgg tgctagttaa aaatcttgac cacacataat 61140
tttagttcaa accacacctg aggatgttc gttataaagt tataaagtta taaagttata 61200
caaaagataa tatgtacta taatagtatt aaaccacaaa tctaaaatac agggcgcata 61260
attgtcaacc ttttatgcaa acggataata tccatatata tacatcatgt ggataattcg 61320
aataatagct ccattggtaa aataataatg taggcgaatc atggatga gatggtttat 61380
cctaaacctc cccatcgaca tagccatgct atagggacct gaccatttta ccttcataac 61440
agatctcttc cataagccaa tagctagact aaaccacaga ttagcaaatg tgtacatcat 61500
atattgtgct agttagtacc aatagaacca tcaggacaat ataaatacta aggaatctta 61560
gctcttagct tgattagaat ccaatagcaa acacgagtag tatgagcagc cttaggttcg 61620
acctcaataa ttatatattg cttgtgcata attgcttctt gttgaatatt ggtttttctc 61680
gcataattata gaaattgtat atcggttagt cgtgaggcaa cgtatgcagc tttcaggagg 61740
tgaaggttga tcaagattgt atcaagaata atgactattc taagcaggca agtcatcact 61800
attccttgaa catgttgatc ctaattgcga aattattttg ttacaaaata aaatlgcatg 61860
caatgatgaa catcctactt gtgattatgc catgccttga ttattgttta cccttaaaat 61920

ccttgtaacc atgattacgt atgagtcctt agtcaattat gacaattgct tagagatgct 61980
attctagaat catgcatact catatttata aaatgctata tgcctgggca attacctttg 62040
ggaaggtaat tgagatgcgg catgtggaga catgaacgcc acattgccat gatattaatg 62100
acatgatttg tgaaggaga aataaaatta aacaactgtt ttcgactggg gcggacggag 62160
gatttgggtg gtatctggaa aaggctagta ccgtccccgg tcaattaagg accgagccat 62220
gaagttaagc atgaaacgac ccccgtaaa ccgcacttct cgtatgggta tagacctagc 62280
ggagtagata gctgagcgga ggcagtatcc atgcatagtg gtttcttgat gtgtgaggca 62340
ggggctctac ggtggggcag ccatiggtag gaccgcaagg cgggtatcta cagtgggtgtc 62400
gccatcggtg ggactgccat gtgagaatct aaaacataat tataacttaa tgcatgtgtg 62460
agtcctccct tcccgggtgc gccagaactc ctctcactgc tagaaaccgt gtacgcctag 62520
agtgcattgag gatgaaaagt tcatggagcg ggtactgcca atgcgagggt atcgaaaagc 62580
tctgccgtga cgcatctcat gtgttgggac gaggcctatg tgttgggcag tcgcggagtg 62640
cgggtaaagt gtacatccac tgcagtgtga gtaaaccaaa tctattcgaa tagccgtgct 62700
cgcggttatt gagcaccggg acatgtatta cacttggcta gactctaaat tcttaacttg 62760
tggggaatgg gataatgcat gatgaatttt atgctgatgg agccacatcc cgagaggagg 62820
gaaggiggac atcctcagaa aaccatgacg attcaatggc gggaagctat ccttgggatac 62880
acaatggatg gtggacagaa ccgtcgttgt ttaaagtga cacttggtact aaaatttgat 62940
cgatctatgc taggttttag gcttgtgaaa agaattgtaa aattagcttt atgcaaaagg 63000
acctgaagcc attccttgaa ataccctcta tcatatgcat tgttattatg gtggcttgct 63060
gagtacggtt ggtactcacc cttgctattt atatatcttt taggagagtg ttgaagagaa 63120
gcccctgtcg gtacgcttgc gtatcccaca agatgatcgg agtgcggtct tgttctaggt 63180
ctcgtttccc cagtcgactg cctgtggcat gtttaaccggg cccttatatt attttgtctt 63240
tcgctgttgt tctctgatag ttgttggcct acctggccct aatgtaagta ttttaactctt 63300
ttagcctaaa ttcatctgtg atatgttgtg atccaactat gtatgttgtt accaactact 63360
gatccagga ttggtacgga taaacacaga agatttccga tttccaaaat cgggggtcta 63420
cacctgaccc cctcaggggg ggggggtcgg gcccgagggt gatgtggccg cccccctctt 63480
tgtctccccg aggggtcggg ccgctcccg tcttgcctcg agggctgagg cggcccgacc 63540
ccttgtgggt ttltgcgccg gtgtatgggt taggtgagca caacggggct cacctaaccg 63600
tatttatgtt ggtttggacg agcgcgtcac gccgcatgta gcgcagtga gcgcgtcgt 63660

ttatccggtc tgtgaccagt cacagaccgg tcagatcgtg ggtaggtgg caacaggcgg 63720
tctgacacac gcctcgcccc atcccgtcag gataagagcc tccaggcact tgtccctagc 63780
ccggagccag catgctaact cctggagatg acacgttggc cccggtcaga tataatgccag 63840
gcttcatccc aaccattaca agcaagatat tgtatgaaga agggcgaaca tgcagattgc 63900
tggactgaca cgtgggtggac aagaatgacc gatttgtgac cggctctgaca ctgggtcatgt 63960
cgctggcaga caaccaatgtt cccacgttgc acctgccttc ggccggagtgg aggtaggtat 64020
gggccatccc atcagaaggt cgttcggaca gcagccattg caagtctccg cccatttatg 64080
aagagatgac agggatgatcc cctggagaga aaaaaaggag gaccttgccc acttaggagg 64140
tgaggacgac tgggaaggga gaggatctgg agagtagatc ccacgagagg aaaaaaggga 64200
gaagagggtt tctagagtaa gagctctctg actctccagc tctttgtagc ttcttcgtac 64260
acagatccac cagaaaatag gagtagggtt ttacgttct cagcggcccg aacctgtata 64320
catcgcccgt gtcttgtgct tttttcattc tcgcgaactt tccacagact aggagcttag 64380
aatctcgccc agggcccccg gccgaaccgg caaagggggg cctgcgcggt ctcccggtga 64440
ggagccccac gctccgtcaa ctttggctta taattaaaaa tactctaagg atatTTTTTT 64500
atatTTTTatt ttcttatgtc tataatgaaat tttaaataag atagatgggt aaacatatat 64560
tggaaaaaca tatatccaaa agtccactat cacaagcgta gcatagatac gattacaata 64620
cgtttccgcg aagactgttt atacctactc tattccctgt tccttgtgcg gttgtgccat 64680
ttggggctgt tttttcatct cggattaaact cgcgtggaaa ccgcgagacg aatgttttga 64740
gcctaattaa tccgtcatta gcataatagg gttattatag cacttatggc taatcatggc 64800
ctaattagac ttaaaagatt cgtctcatga ttacatgca aactatgcaa ttagtttttc 64860
tttttatcta tatttaatgc ttcatataatgtgtccaaaga ttigtatgca tgttctggga 64920
aaatcttttt ttaactaaac atgcccagg tgtttctcca attaaagtga cccaaaatca 64980
ttcggcgtca cttttgtctt tcactttcct tccactacaa ggtgatgaca ctgacaaaag 65040
gtccaaaagc tacaggatct gatTTTTgtt catccatctg tgaatgtgtcg gcaagccatc 65100
catggagttc atccactcaa ctctctctc tcagagagag agagagagag agagacagac 65160
agacacatgc atgatagatt gtgctagtag ggtagtaaca ttttattgcc tcttttcta 65220
aaattctagg ttgtttggaa aacaaaaatt ctagattgtt caataaatta ataatttag 65280
gtatttatTT taagtcactt taggtgttaa tttttgaatt ttaaactgct taaactctct 65340
ttcgacgcat ctgagagcag gtacaatagc agactataag ccagctataa atatatTTTa 65400

agtagataaa agaggaaaaa taagaglagc gggctataga tttagtagaca gctgcagcgc 65460
gagctccaag atacataatgt gtatgacatg tgagaccaa cattaattat gtagtatatg 65520
tttatatgta tctattgtat gaattggcta ttaaattgac tatgggtgtg ttcggagggtg 65580
ggtgttggga accatctccc aagcacggaa aacggagcgg tccattatgg cgtgattaat 65640
taagtattag ctatTTTTT aaaaaataaa tcaatatgat TTTTTTaaac aacttttgta 65700
tagaaacttt ttgcaaaaac tcaccgttta gtagtttgaa aagcgtgcgc gcggaatatg 65760
aggagagagg gttaggaacc tcctcatccg aacgcagcct atacatgatt tggagccaat 65820
agttaggctat aatattaaac ttgctctgag tggctcttga atcatcgaag tgatagaaat 65880
cataatgcaga aatgtttata tttagtgatgt aaaatttgaa tctaaaatta ttatatTTTT 65940
gaaatggagg aagtactacc taaaacaagt atgagaaaga gacatgaaaa acacaaaatc 66000
tagacttaaa aataattgga attactagca ggaggctcga gtcaatcaag acggcgaaga 66060
aaagcacagg ggacagcaga cacgttaaca cgtaagtaaa caaacaagtg gtttaattaat 66120
tagggggccc tcaagtctcc cctaaagcca ctaaacatga caggtttgtg taccatggaa 66180
aaaagggtga agcaaaactt tattctctct ctcattagat taccagttgg aaagcaatcc 66240
tgggacctct agctaactct attattgtag aacaacgttt tcttagagag agagagagag 66300
agaaataagt caataaaaaa tactactaat ccactigaac cagtctctgc ggtgtcggat 66360
gatttaccac atttgacgaa acggactatt tattcgacgt ttcgaaaaac acactTTTTT 66420
agaaaaaaaa aactttctct tattagccac tcgttttagt tatataccta tccgagtatc 66480
tgttaagttt atttatcaaa atatttaatt tatctctata attaaatata caatccgtaa 66540
aaacaatcac gcagtaatic gtttcaaact gagcctcagc tagaaaatca aaatggaaat 66600
gaataacaat agcaacagta gagttagttt ttcggcctat catccgcaac ccaaatgcga 66660
attttaaact tagccttaga gtttaatttt aaggcttgtt taccatactt cattttccca 66720
gcattagttt cttttgtcac taaaaattgt TTTTTTaaag ttgttcgttc attttctcac 66780
ggtttatcag cagtagagcg aagccattct tggagcctgt ttggcacagc tctagctcca 66840
gctctagctc cactctttct ggagctggag ctacagcccaa cagttttagg tgcacaaaaa 66900
ttaggagtgt agttgggtgg aactctctca caaaaaattg tggagctgga tttagacagc 66960
tccacaactt cactccaaac ccaactcctg aagttaaatt gataagttga agctctatct 67020
atcaagccct ttttcttgat catgcttcta cctactccat ttttgtttct tggccctcac 67080
aggaattgga aaggaaaggc gtatatgcat caatgcatgc atgcgcacat caacctcgtc 67140

catcaaccat cataatcatc atcatctcgc cagctgacga aaatgacctg catccatcca 67200
tcacggacaa tccaagcgaa caccgctacc aacatcacag ccaacctgtt tatcactagc 67260
tcttgatacc actcctacat aaacactacg cgcaggttaa ttaattaagc gtgattactg 67320
aagtaacatc taatcacgtc ctgggttagcc ttttaataaga caacagttag agcagggtaca 67380
atagcagcag gatataagcc agctataaaa aaagagagaa aagagcaacg ggctacagat 67440
ctatagccag ctgtagcatg gacttcaaga cacaacgtgt gtataacagg tgggaccaga 67500
taataatagt gtagtatagt aagtaactat tatatatatt gactatagat gatttggagc 67560
tattagtgtg ctatagtatt aaacttgctc atagagcagg tacaatagta ggatattagc 67620
cagctataaa catattataa tgagataaac attgatagag aagagcagcg ggctacagat 67680
ctgtagccag ctacaacacg gactccaaga cacaacgagt giatgacaga tgggaccaga 67740
tattagtagt atagtaagca actattatat aaattaacta ttacattggc tatagatgat 67800
ttggagttag tagtgggcta tactattaaa ctttttctct tagcaaaaat caagcgccta 67860
atcacattag aggagtagct ttgagacaaa ccaattagcg gcgaatcaag cgatctgcgt 67920
ggctcgtacg tgatgggccg ggccggggcc acagcccgac agtgacaggg ggccctgacgc 67980
atgtcagcct cagccctgga cgggagctag ccgttgtgtc cccggggggag gggagggggg 68040
cattcccatc atttcgcccc tccctcgggc ccacatctca gtgggggttaa aggtgtaaat 68100
tactgcgacc gcgagtcag cgagcctaga tttggacctt gtgtccgttt gactgaaccg 68160
gagctactcc ccaatacggg gggattgcgt tgtgtgcatg ccatgtgggc ccgagcgccc 68220
tttgttcgtg gctttgggtt ggaaagggtga ccgtgtgagc tgtgcggtgt tgtactacgt 68280
attagtataa atcatttttg ggtactactc cctccgtcca aagcittatt ataatttgtt 68340
gtactccaac cgtccgtctt atttaaaaaa aatataaaaa aaattaaaaa aataagtcac 68400
acataaaata ttaatcatgt tttatcatct aacaataaaa aataactaatt ataaaaaaat 68460
ttcataataa acggacagtc aaacattgtc acgaaaatct aatgtttgcc ttttttttta 68520
agaccaaggg agtatctacg aacaaagata atacatgtta taatcatgaa gcccatgatg 68580
tgattagccc ggccgtttga ctaacctcac gagctacgtg gctgacaagt ttaacttgtt 68640
aactccatca tttcggatac ttagagcatg tacaatagca gactatlagc cagctataaa 68700
cataatttaa tgggataaaa gatgagagag aagagcagcg ggctacagat ttatagccag 68760
ctgcagcagc gactccaaga cgcaatatgt gtatgacagg taagaccata tgttaatagt 68820
atagtaagca actattttat aaactggcta ttagatcggc tatagataaa ttggagctag 68880

tagtggacta tactattcaa ctigctctta tatgataaa atatigatat aactataatga 68940
 ttttgttaat gacatgtttg tttatggaig gactatgtgg ggicggtcgc ctccgtagct 69000
 gacccaaaata caaacttaaa acccctatct ataaaaatct aacttttgtt tataaatata 69060
 gatataaaaag ttcataatta gagccctcatc ttttaaacga aaagagtlact atgaaaacaa 69120
 ctctgtaatac aaagactaat tacgacgaaa agaaaatagt actgacaaga ggaaagcagt 69180
 gaacttgcct actccctccg taaaaaaaaac caacctagac acggatataa cactatata 69240
 ctagattcgt tcgttgtaat gaagtgtcac ctccgtatct aggttgggtt tttcgtacga 69300
 aagaagtatg agtaaatcta aagctatgta tacccttcgt caaaaaaaaaa aagtaaacct 69360
 tgtactgggt cgtgtcacat cctaataata tattgttttt tatggagggt gtacagttaga 69420
 aaaaaattga tgtgttttaa ggaigaaaaa tatggtaat gttggctatg taactctaga 69480
 aaaaaaatg cagtaataat aaaatgctaa ttigctggag tactagatta tagacaatcc 69540
 agtccaggac acgacacct ccttactctc tccacttcca ctctcaccgg ccaccgcgcg 69600
 ctctctctct ctctctcccc ctctctccgc aagattcttc ccccaaatec caccgatcc 69660
 accgccgccg ccgcctcgcc ggagtcctat cgctgccacc gccgccggag ccgcggccccg 69720
 acgccgccg ggccctgctt ctgtgtgtgt gaggagggtg agttgtctgc gctcgttccc 69780
 gcggccacct ccgcctgctg ctgcttctgc ttccgctggc attgcgggga ggicgtgtgc 69840
 cgggggacgt gggggctcgt gttggagcgc ggctgccgtt gaggtggggg gtgcggcgcg 69900
 gcgcggctcg cgctcgtgcg ccggtggcgc gggcgcgggg ggaagcgtac gggggagggg 69960
 gagtgtggcg gcggcgcgcg gcggggtagg gacggcgccc gccaccacca ccggctcgtt 70020
 cgctggcagg cgctacgcgt ccagatccgt acgccggtat gcttcgtctc gccgcaactc 70080
 tctccatttg attagtatcc cctcgccgaa acgaggcctg tgaggcgccc gctttctggc 70140
 tggcttccct gtactcgtg ctigctcctg cctgttgggt taaccctgtt ccatcgaatt 70200
 tgggtaagcg aaacatcgcc tcatatgggc atttgggggt ctggcagcct taggctcgcc 70260
 atccgtcgcc gagcttccaa gtgaccggcg ctgttggta tatttgcttg ctgttccctg 70320
 tttgggtggc gcgctaaatc ttttgtgtg cattgaattt atgccacca tatacagcaa 70380
 attactgagc tgaataaatt cggctaatga ggtccagcaa tatgacatct cgtggattga 70440
 atgctaagct gacattgtat cactgatgct ggcttatata taggttgttg agaagtgaag 70500
 atgtcgacag gtgaaacct gcgtgcagag ctatcatcca ggacgccgcc tttcggtttg 70560
 aggctatgga ttgtgatagg aatcagtatt tgggtggtag tcttctttat actaggtttc 70620

atgtgcctct ggtccatata ccgaaggaag ccgaagaagt cctttgataa gattccagta 70680
tctcaaatcc cggatgtttc caaggagatt gcagtagatg aagttcgtga gcatgctgtt 70740
gtcgaaaact tccgtgtgca agaaagccac gcgatatcgg tgcaggagaa acattacgag 70800
aaagattcag ggaaaaatgct ggcacacttg gttaggagta aatcgagtga tgccgataat 70860
ttgagccaat gcagctcggg gtaccaatgt gatagggtcg gtagctcgta ttctgggtgat 70920
gaaggcagct cgggcaatgc taggaggcac ttttctcaat atgcaactgt ctacagcatcc 70980
cctctgggtg gtctcccaga attctctcat ctgggctggg gtcattgggt tactctgaga 71040
gatttggagc atgcaacaaa tcggttttcc aaggagaatg tcatitggaga ggggtggatat 71100
ggggtagttt accgtggtcg actcataaat ggaactgacg tcgcaataaa gaagcttctt 71160
aataataatgt aagagatcct gaaatctatt ctgcgtttta cagaacttgt gactccttct 71220
gatgccatca tattaatitt cttttgatat ggtgctgcag gggccaggca gaaaaggagt 71280
tcagggttga agttgaggct attggccacg tcaggcataa gaatcttgtc cgccttctag 71340
gatatttgtt tgagggaatc cacaggtaaa gctattttat aatcaccttt gctgatggat 71400
ggctagcttt tgtttctact ggcacattat ttacttgcag agggatgtag gattgctctt 71460
ggtctatgtc cacctactca ccagattatc tcaagggata ggttattcct gactgcactc 71520
cttatgctat cgattttttc ctttccaaat ctgatggtag gattcagcat gcccagtgac 71580
agattatgct cagtcacacag aaaccttctt tggaccacca ttcttttacc atgaaaatgt 71640
ggccatagct ccgaaagcta ggattcacta gaagcgcaca actgcttatt ggtttgttag 71700
ttggctataa caaggcttta ctgaaatgta ctcccatagt tcattacttt gtgaatgcct 71760
gttcttgttc ttacgtttc ttctcatgca tgttcaattc taaatttgta ttcatgatat 71820
gtccaagcta ctgtattctc caaagaaaaat cagaagtcca ttacctaag tattttccag 71880
ttttccgcca ttttggatac tgctctagaa acaagttaat aatatagata tttatatggg 71940
ttggccagtg ctgcttaagt gaccatcgag atagaaattg ctttaagaaat atactaagat 72000
gttgagtgtc aggtgttttc ggataatctt gttaccaaca aataggctct atgaatataa 72060
tgggtgtctg ttacagtaat tcaaaatcca cactcagcca aaataatctg caatagggtg 72120
ttgaaaatat gattatgttt ctcccttgtt ttcatcatga ctacagaaat gaacaatgtt 72180
gctacatctt gtaataatit gtggttttca attgaacaaa acatccatca aatgatatct 72240
acagcaatat attttgcact tctgagcaca caatagggtt gagtgtattc gagtcatggg 72300
cattgattta agctttttat ttactacat aaccattgat ttgagtgtat ctaaggagtt 72360

ctgtttccac aagtacttta tgttaatggt gtctccttat gctttggcca tccaaactca 72420
ttactgttgt ttaatatitt tagtggtag tgggtgccaa atctttcttt gtgtacatca 72480
tactatgttt ttgtagtcta ttaaacttcc atcctatcat ctgacttggt atattccagg 72540
atgcttgtat acgaatatgt gaataacggg aacttagaac agtggcttca tggtgccatg 72600
cgccaacatg gtgttcttac ctgggaagcc cgaatgaaag ttgttcttgg aattgctaaa 72660
gcgtaagaaa caaaccatcg tccccgtcaa aaagaaaaga attgttcttc acttagctc 72720
ttttatatgt atatgttttag ttgcataacc catittccat aactgaattg gtatacaggc 72780
ttgcttattt acatgaagca atagagccaa aagtgttaca ccgggatatc aaatcaagca 72840
acataactaat cgatgaagaa ttcaatggca aactttctga ttttggcttg gctaagaatgc 72900
tgggtgcagg gaagagccat atcacactc gagttatggg aacttttggg tatgttgata 72960
tttttttggg gttagtatta atctttccta tgccttagctt ttactgttgg aatgtgcagt 73020
acttcgctta ttcatacagt ataaaatitt acatgctgcg aactttgtcc ttcgtatatt 73080
ataacaggta gctttctcat tgcctatcatt gattcatttc aggtatgttg cccctgagta 73140
tgccaacaca ggtctgttaa acgagaagag tgatgtctac agttttggtg tgctattact 73200
ggaagcagtg actggtagag atccagttga ttatggccgg ctgtctaatt aggtgagcat 73260
atatectaca atctcatgcg tattatgtat gttacaaaag tccgtactat tggaaattat 73320
tttacggcaa aataacgtct atactaggag agacgaattt gcttcagggtg tatggctgtc 73380
tggcagttgt ctactgtcta gttacccttg tctcacittt acagtcattt gttttatttt 73440
tcaggagctg actagctgta taccttgtca tatataacaa cactgtaacg tggatgcctt 73500
gcagggtgat ctagtggagt ggctcaaaat gatggttggc acaagaagag ctgaagaggt 73560
agttgacctt gacatggagg tcaaaccgac cattcgggct ctttaagcgtg ctctcctagt 73620
ggcactgagg tgcgtcgacc cagactctga gaaaagacct actatgggtc atgttgttcg 73680
gatgctcgag gcagaagatg tcccatcccg tgaggtagta acgctttctc ctttcctgca 73740
ataacattca tcatattata tcattgcaat aaatctgaag cttttgctgt aatcctactg 73800
aaggaccgga ggagccggag gggcaacact gccaatgcag ataccgagtc caagacaagc 73860
tcaagcgaat tcgagataag tggcgataga agggactcag ggccatcagc aaggtttcaa 73920
ctctaagaag acggtgatca tagtcaagaa caatggcttc aaaactctat gcagtaacat 73980
ggtggttggc agagaaaaag gggatattct ggagggcatt gcatittgta ttgtaggctt 74040
gcatggcggt agagactgga gagagcacag tgcttgatga tggatacccg gagacctgta 74100

attcccatc agtatctgt ttgttagtca agcagcttgt acagatcgtt gtctgttcca 74160
ttttttcatt ctctctggttt ttttgttttag gaggctcttg gattaccagt acgaaccgct 74220
gtctcttttc tagaatcacc aacatggaac ctatcaatat ttactactag tactacgact 74280
tgctttcttc ttgctgagat ctatcatgta ctgtacataa ctgacgtgtt cagctgcact 74340
tggacaagta gatgctcgtt ctgtatgtcg aatttacttg atgaggtcga gcattaagta 74400
ccatggctgc agccggcttc tgttttagttg tgcigacatg cggcggcgac ctacgctgt 74460
gtggcccatc ctgatcttg ggccgaaact gtagcaacgg gcgtacggcc catctataac 74520
gggatgttc ggcccgttgt agatgggccg gatcgggatt gcgacttacg tgcgacccat 74580
ttcggttggg cgggtggtcc gctacttcat ctagcagttg tcggcggcag ggttcacaat 74640
tccaatagaa tccaaacatt attggattga gttaaaaaca caaaccaatc ggctttttgt 74700
caggttcaga aaattttaaa ctgaatttta attttttgac aaaaatctat ttagatttcg 74760
tctgtttttt taggtttgtc aacggattca gcgaaatccg atgatatcg cgtgagttgg 74820
atttttgatc cggtatcgag attgtgaacc ctgtcgcgc attgcctgac aaagacaacc 74880
agtgaagcgc cgtgcgcgcc gcgtgcgcgc cgcgtgacgc gaagatgcgc aggaaggaac 74940
aagctggcaa gcggcgcgcc catgacggcg gcggcgacga cgaccgcgc gcgtgcgtgc 75000
gtcaacgcac gcgaccggcc gagatccgtc agtggccgcg gctatatata atacatcgtc 75060
gcctcacacc cccacacac cgagtcacg ctgcgccgag ttagagttcg tagcggcgaa 75120
ggatatagcc atatatata gatggcgatt ggtgttggtg gctgctgcgc cgtgctgctc 75180
gcggcggcgc tgctcttctc ctctccggcc accacatgta agcacgcca tcttcttctt 75240
cttcttcttt tttcttctt ttttttttt tttttggaaa tgagccgcag ctgacaaaaa 75300
gatcactcac acatggatac actgtcgtga cactaacca tgcctaagcc attttgtttt 75360
cttgttttgg attttcttt ttatgtgtat cacttttgct tgttgctctt gcagatgctt 75420
atgattccct ggatccaaac ggcaacatca cgataaaatg ggatgtgatg caatggactc 75480
ctgatggcta tgctgtaagt agcggtggca gtacaccaac atctctacct ttattttcgt 75540
ctcaacctgt acatttacac tatctgttc tactacctct aataaaaaaa tataattgat 75600
gttttaaaat ctattaagtt ctagagattt ggaaagctac acatggtttt atgttttgat 75660
actattaagt agtatatttt ataagttata ttgaaggctg gggtttcaa agttigacta 75720
cactagatct tattcaaagc gtctaataat tactgaacgg aggaagtatg aacttataga 75780
cttgaagtta aacagcatag ccacatctct tcatgtatac ttcatccgtt tcatattata 75840

agatitctta gcattatcca tattcatata tgtgcgtcta gattcattaa tatctatatg 75900
 aattgggcaa tgctataaaa tcttataacc tgagaaacgg agggagiatg tcgcaaacia 75960
 caacaacaat aacaacgagc aaaatctgta tcgaatccgg tttccctctt gtaactgiat 76020
 caaagatctg tcctctgaaa cgtccctctgt tcatcaggcc gttgtcacac tgtccaacta 76080
 ccagcaattc cggcacatcc agccaccggg gtggcagctg ggggtggacat ggcagcagaa 76140
 ggaggatgat tgggtccatgt acggcgcgca ggccatcgag cagggcgact gctccatgtc 76200
 caaggagggc agcaatgtcc cccacagctg caagaagcat cccaccgtcg tcgacctcct 76260
 cccgggcacc ccaatcgacc tgcagatcgc caactgcgc aaggctggat cactgagcgc 76320
 attcagccag gacccggcaa attctgccgc gtcgtttcag atc 76363

<210> 28

<211> 53905

<212> DNA

<213> Orza sativa Asominori

<400> 28

gatcagttag tgagagtgat gtgctattga ttttcgtcta ggattttgct gtgctcttct 60
 tcttcttctc ctctctacca agaaagatcg atggaggaga atttgttaga cgcgtttctc 120
 acgaattact tagctgttaa tgatcagctt gatgtgtacg atatgatggt gcagagtga 180
 agttgtgttg ttacttggtg gatcatggga tgggaatatg ggattgttgt aagatgtaac 240
 tcaagtgttt tcttttttgg gattactttt ggtaataaga gcttgggtga tcgaaaacta 300
 cagatggttt tctttttaag ttgtatgac tctgtagagt ttttgagtaa tttgtagt 360
 tgtaccctat caaagatcat ctctagctgc ctctgagctc tccaactcta tatgtccatc 420
 tctagtatat atgtcccata tttctgactg aaaattttca agtcggttgg ttcctccgc 480
 ctggatattc tttcagctaa ttagattttt tttaaatgat aaatttgcta aaagcttgtt 540
 caaattcagc taagatctat tcaaacttca atttctctat cgaaattccc ggaaatttca 600
 attcaatcat tccccaatac atgccgattt ccgtaatat gaaccatgac atgtaaacia 660
 cgaaggaatc aagggcata ttagtttcat ctccatcga atatacggac acacatttga 720
 agtattaaat gcactctaat aacaaaacia attacagatt ccgccagaaa actacgagac 780
 gaatctatta agcctaatta atacatcatt agcaaatgtt tactatagca ccacattgtc 840

aactcatgac gcaattaggc ttaaaagatt cgtctcgcag tttcctgacg aaccgtgtaa 900
ttattatittt ttctacgttt aatactttat giatgtgccc aaatattcaa tgtgacaacg 960
tgaaaatttt tatttggaac taaataggcc ctaatatctt ttcaagatat tagaatagtt 1020
atccctctcc acctccctgc acaaacagtg aacttccttc tccctgggca caggagtagt 1080
agcagctccc ggaaacagaa agcaatcaag caaagtcctg aacctgaagc atcctgaaac 1140
cagcagacgg cagaaaccag tgggcgcagg cgatagcagt ttttcgtggt ccggcgtaca 1200
gccaaaatac tggccatcgg gtgcctacat agaattgagtc cactggacgc agctaccacc 1260
gtgtgtgcta cactgaccgc cgctgctcgt cgaccagttg tacggggctg acttattctg 1320
aatttctaata ggtttatttg ggggtttaga acactgaggg gtgcctttaga tccaaagatg 1380
tgaagtttgg gcgtgtcaca tcgggtatta tataatagtt cgcacagggt gtttgggcac 1440
taataaaaaa actaattatt gatcctatac gataagctat ataatactcg atgtgacacg 1500
ccaaaacttt acatccctga atctaaacac ccttttaaat agagtatttg gtgtgaaata 1560
taattttgat ttgggaagaa ggtgagtgag atttggaata aaaaagcatt tcaattaaaa 1620
aatttgccag cagtaaataa agaaactact cggttttgta attaaagtga ggttttggca 1680
cttctttgcc ctaaactggc ctccatttta taaagtgaga accgtgcagc aaaagcctga 1740
aaaggcaaaa agaaagaaat tgtagagggt tttcaggagg atacaactag gtgggtctct 1800
aactctctat gcagctgtgg tctgtggagc aaaacgatga aatggaagac gggacgttga 1860
cgagggtgaa gaaaacgagc gtttgaccag cgtcaacat ggctgaaca gtagcaccac 1920
taacctgacc gagaggttga agaagatgca atcaacgggg tactatagtt cccacgaatt 1980
tcccagcaac aacgggttgg ttctcactac tcacgaattc cctgtggctc aacaactact 2040
agtacatcct ttgtccatt atgataaaag ttctatctta atttttatit acacgttttt 2100
caaactgttt tttaatittc tatataaaaa atacttaaaa tatcaaataa aatctatitt 2160
tggagtttta aaaaactcaa ttaatcatat atattattga cttatittat ttacgtgga 2220
ctaaaatata ttcatcttca tttaggttat gtcttttct catcaagata catgatacat 2280
tagcatgttt ttcaaactgt tttttaattt tgtatataaa ctactctaa aatatcaaat 2340
aaaatttact tttagggttt ataaaagtaa aactcaatta atcattacta acttgtttca 2400
ttttacgtgg actaaaatat ctctatcttc atctaagtg gtgtttggat ccaaggacta 2460
aattttaatc cctatcacat cggatatttg acactaattia gaagtattaa acatagatta 2520
atgatgaaac ccattccata accctggact aattcgcgag acgaatatat tgagcataat 2580

taatccatga ttagccctatg tgaatgctgta gtaaacaatgt actaatlacg gattaatata 2640
gcttaaaaaa tttatcttac gaattagctc tcatitatac aattaatttt attgttagtt 2700
tacgtttaat actttttaatt agtatacatc cgacgtaaca ctgatacga caaacaccaa 2760
ctaaatcgaa aatcaccgaa tggctcgtca tccctcccaca tgagatgcca agatggaaca 2820
ccaacaatcc aacggctagg aagcgcccca tcccacccac cgcctaaccg ccttcctatg 2880
caagtgggtc ccaccccttc cttccctttt tttttctttt tacaaatccc cttccctttc 2940
ttggctagct agctagcttg gcccaacgcc acgagccgag ccgagcacat ccggagccaa 3000
gccgagctca gcgcctcagc tccccctcct cctcgtccca tttcccggtt cctcctccga 3060
tttcccccaa atccgcacgc ctctcccctc cgccctccatt tttcccgatt cccaattccc 3120
aaatccgat cagccgcagc cgcagcagca aaaaatttcg aaatccaaat ccaaaccat 3180
ccccccacg acgacgtcac ccacatcccc acccccgca gacgagacga gacgactccc 3240
aaatctctct ctccctctct ctatgcgcgc cgccgcccgc gccgcagcag cagcagctag 3300
gaggcggagc agcagcagca gcagcagctg agatgatcgt gcgcacctac ggccgcagat 3360
cccgtctctt ctccgacggg ggaggagggg agcgcggcgg cggcgggtggg ttctcgtcgt 3420
cgcaagacgc gttcgaattc gacggggagg aggaggacga cctcgtcctg ctggggctgt 3480
cgtcgcagtc gtcgcacccg cccgcgcctt cgcaggagtc gtcgtcgtat tgggacttcg 3540
acgaggaccc gccgccgccg ccccggcggc ggccggggag gggtaggggt ggggactacg 3600
cggagccccg cacggcggcg gcggcggcgg cggcggccac ctgcctcatg gaggcggagg 3660
agtacggcga gatgatggag agcgtggacg aggcgaactt cgcgctcgac gggctgcgcg 3720
ccaccgcgc gccggcgggt gcgggggcca gcttctcgc gctgctcggg atctgcgcct 3780
ccgcgcgcgc ccgcgcgtc ctccgggccc aggggtcgtt acaccaaaga accctccttt 3840
ttttttctt acttgctcgc gctgtaagta aagaataaca attcgcgttc ttgctcttgc 3900
ttcgcgggca atcttggta ggaatcttgt tagggttatg aaatlggca gccagtctt 3960
gtttcttctg cgtaatcttg gcggaacag tgggattttg tacgattatg gctccgtaat 4020
cggcatttct gtgggaaatg aaccacctt agggcatttg acctcgaac agcatgcttg 4080
gtgttgcaat ccgtagctat tgccttcac ttaggcacaa gaacttgctc tgaattatga 4140
tttaccact tgtgtttgtt ttcttggtt gagttttctt gcttgggttag ggttaggggt 4200
atcacctgg tgggtgcagaa ttagatgttc gctactgtc ttaacctctg ccttgcccaa 4260
tttggtaccg agtggttacag ctgggtttag gaagtgtgat ctttgagcat ttctagcatg 4320

ttggctctctt tatcttgcta atctcacatg gttgtagagg aaggaagcat agtgactgat 4380
gatgaatgcc tagatactag aaatacatct ttattaaactg aattaggatt gcttgggiat 4440
ctaigtatagat atgactgtag aatgttactg ctggaaatgc tatccaatat ccattgatct 4500
ctagccataat atatctctcg aggccaagag atcagticaat ttigaacttt caggagagtt 4560
tctatttggg acttaatctc ttttatttgt tacttttggg gccctggctct cttttcatga 4620
ttgctaagta gacaggtaaa gtcttacctt aaattattct taaaagtcca aaatcgcttt 4680
agattaagga gtgccagcca gagccttagg cagagictta taaacaaaa gcacaatgct 4740
acaatgttca caaaactttt gtggaatttc cacttgagct gtataaacat cgcaatctac 4800
tgtgaataaa agaagcactt gatggaagtt catgttagca aatgacatgt tttctgtgag 4860
gaggttgatt gcttgaactg ttaiggactc ttgcaacttt ttattttact tcgtacccat 4920
ttatgctaata gtgcacaaat aaaattgctg agagtaaaaa tgtacaactt gttacgcacc 4980
agcacacttc ctatttgtat ccattttcct gtigaatttc aaatgtattc aattgctgaa 5040
attgttccat tcaacaaaca catattccgt taatgaaatt attatacatt gcgttttgtt 5100
ttcttactca caagtgctct cttttcttat atccataga ttgggtgcaac aaattattga 5160
tgcaattttg gttttgaaca ttgatgatec tccctgcact attgggtgcag ctgctcttct 5220
attcgttttg gcaagtgaig tgaglacctc tcaatcccat ccttgtgctt ctgtgcatgc 5280
ttcattctat tttttacgca tatcgattgt tttcttttat ataacagccc ataaaaataa 5340
tcacatcatg gcaaagtta tttttctcc agtacagtta tataagtatt caccactttt 5400
ccatgaatat cttggcatgt gattacaaag aagattatct aagaaagtc atgcttttat 5460
ttcatcatit tgtttgaagt tgaactttta tttatgggtgt aaatttcagt taatattgct 5520
agcagctcgt attctttaat ggcataactt cacttgtgct tattctccaa tatctccctt 5580
cttgttgttc aggttcaaga aaatcatttg ttggattcag aatcttgtgt ccattttctt 5640
cttaaatlat taaatcctcc agtgaatctt gttgattcca aagcaccatc gataggttcc 5700
aaacttcttg gaatcagtaa agttcaaatg cttaatggat caaataagga ttctgactgc 5760
atttcagagg aaatccttc aaaagtigaa gagattctct taagctgtca agagatcaag 5820
tcgctcgaca aagatgacaa gaaaacaaca aggccagaac tgtgtccaaa gtggcttgct 5880
ttgttgacaa tggaaaaggc atgcttgtct gctgtttcag tggagggtaa gttttaatca 5940
aatttcttgg tcatgatttc cttttatgac cattataatt atttttatga gccaaataag 6000
cagttgccaat aagttacata gcacctgttt acaatatcca tgggttggttt gcttagccct 6060

ttgcttcacc tgcctttgat tgaatgacttc catccgtgtt gcacaactga attggagtaa 6120
ttgactgcac tagaagcacc taaggccatt gtcatactag gaaggttttc ccttatcaaa 6180
tatttgattg ttacagagac ttctgacact gtgtccagag tcggaggaaa ttttaaagag 6240
acattaaagg agttgggcgg tcttgatagt atttttgacg ttatgatgga ttgccattca 6300
acattggagg tgagatctcg ctaacatcgc atattttaca cttectttgt tcaactctaa 6360
aggatggatg aagttttgtt cttttttgcc attttagctt taatgtgctt gaagccacat 6420
gaaagcaatg ctgtgtccaga tacatagcca aaggttgtta ttttttggga catggaaaat 6480
gcttgaggta gtaactatit tcatcaggac atggaaaatt ggctgcatca caaatatgt 6540
tgtttcatgt tgcaaaatag ttttttaata cttttttatt ctgcatgtgg tgttagigtc 6600
ttacagtgat tctctgatg attataatcc ccacgataat aatactgac atatctacac 6660
caagtggaca ttattcattt ggatgttact ttccagcta tacttgctgt tcttgcataa 6720
actttggagt aaattgctga tcccittaa agataaactg ctgggtgctc ctatctgtgt 6780
actttttatg cccccaacta ataatgcaat catattacgc tgataaactg aataaataaa 6840
ttaacaatat acttctgggtg gaaacctgt gtatcagaat ctcataaagg atacctcaac 6900
ttcagctttg gacctaaatg aaggaacatc ttigcaaagt gccgctctcc tcttgaaatg 6960
tttgaaaata ttggaaaatg ccacatttct aagcgaatg aacaaggtaa tgttccitat 7020
atattctgtt tcagtttagt acccatttct ttcttctgta ccatctctc ccttcatttg 7080
ttctgtgcaa aatgtgcaaa cagtgtgact ttgtatttct gcttaacatt tttctttttt 7140
tcttgaaaag cagtataaac tcttacactc attttgcttc ttgcagacce atttgcttaa 7200
tatgagtaga aaattgtacc cgaaacgctc ctgcctttct ttgttgggtg tcattatcag 7260
tattattgag ttattatcag gtatttttct taataatata atatgtccgc taacacaata 7320
aaatgtttta aacatccagt atgttaaagt tgcagctctga cgcctatitt gttttgctgc 7380
agctctttca atactgcaga attcttctgt tgtttccagc tctacatate cgaaatcgtc 7440
taaagtctct caacagagtt gctctggtaa taacaaacac caaatitgtt tgatcaactc 7500
gttggctttt ctgtgcactg ttccaatata gtttgggtgc cattcaagtc tcaactacaga 7560
tgttgaactt gacctgacac ggtggcacca atatttataa aacgctacct gatattttta 7620
atatttcatg ttctctgacc cagattatct tgttgggttc tcatataagt ttaattagtg 7680
tcgttcttga aactttgtta tgcagcagat gtcatggggg gaacttcatt taatgatgga 7740
aagcgcaaga actcgaagaa aaaaaacctt ttgtcgaacc agacacgcca tagttgctta 7800

tcttcaaaat cagaagtttc tcatattact atatcttctg gtagtgaigc tggctcigtca 7860
cagaaggcat tcaattgttc tccatctata tcaagcaatg gggcatcaag tggttcatta 7920
ggcgagagac atagcaatgg tggtgctttg aagtigaata taaaaaagga tcgtggcaat 7980
gcaaaticcaa ttagaggctc aagtgggtgg atttcaataa gagcgcacag ttctgatggg 8040
aactccagag aaatggcaaa aagacgccgt ctatctgaaa atgtaatcac cgacagtggg 8100
ggcgggtgatg acccttttgc ttttgatgat gttgatcagg agccttcaaa ttgggaactg 8160
cttgggtccaa aaaagaaatc gcctcagaaa catcaagaca aatcaggaaa tggagtgcta 8220
gttgcaagtc atgaaccaga ccaacctgaa gatcttaatc agtcgggtac aacatctctt 8280
tttagtgcta aagatgaatc cagtcitttg gaagactgcc tcttggcatc agttaaggta 8340
attaaatatg ttcccttctg atcttcttgg ttcttcttc aagagaatat acattcttgg 8400
gtcacagttt ctcggtttgt ctttgtgact ttgttgagtg acataatttg aattcacaaa 8460
atttccittt caatatggct cctcaatcta tagcatctgt cgtgtatgta ttctgtacaa 8520
aatagtattg taacatctcc tagaagaaat tggcaccatc catacatac agtagcaatt 8580
tatgagacgt gatcctgatt ggaggittag gacagagcct cgagctaaat tgctattgta 8640
ttgtatctac tatcttttag tacatgatat gtgctgggca ctctgtgtct gagtgtagt 8700
agtgccttaag tttaacatagt tcagctaaaca tgcataatgta agacagtta tgattaaatt 8760
taagtgtaga aagaaggta tttcaaaaga tttttaagga caatataatt gtttcaccgg 8820
gactcatgct tgttctgact gtgagcctaa tgttaccttt acatgccctt acattgtcta 8880
ttttttatcg ttttatgaga tcttccaaac aacttgatct gtcttaatgt ttttttgcta 8940
gttccittct tggatatctg gtaaatgggt aggccgaagt atgaactttg ctttattgtt 9000
tcaaagaaaa tgaacaact cctggaaaag tctaattttg gttgcccttt attttgctga 9060
ccgtattggc acacatctaa ttctgttgtt ctttctggc aggttcttat gaacttagca 9120
aatgacaacc catctggttg tgaattgatt gcgtcatgtg gtggacttaa caccatggcc 9180
tccttgatca tgaagcattt cccctcattt tgtttgtcg tggacaacaa ctataacacg 9240
agagatgtca atcttgatca tgagttatca tcttctcaaa acagcaaggc acaccaggct 9300
aaaattaagc aattgcgaga tcatgaactt gattttctgg ttgccatatt gggcttgctt 9360
gttaaccttg tagagaagga tagccttaat aggttaagtcc ctacatgct tccttccatt 9420
tgctcaattc atatcagtgt tactgttctg gcagttcctt ggggtcagga ctacagaaaca 9480
tccaattaat gticatgttc tcttaacgac tcagaaatc tttataacct ctccacaggg 9540

tacggctttc atctgcccgt gtccctgttg atctatctca gaatccacag agtgaagaga 9600
cacagagaga tgtcatagca ctccctgtgt ctgtattctt agcaagtcaa ggtgctagtgt 9660
aagcttctgg aactatatca ccgglaattc aaaattcttc aagttccttt tgtatgtaga 9720
ttatatcttt gtaaaactcg gcatlitta cctgctcttt gtltcaaaaa gcagtatttt 9780
atlttgctcc ttagcatagg tcagcagaac agttgatctt attcagaaaa caatattttg 9840
catgtaacat actgttatct atgagatgaa aattaatgca tgtgtaataa tgtcaatgat 9900
aaatatttgc tatctgaatc cagtctacca actctagtta gaccgaaatt actgaggttc 9960
tatttcaaag aataatttag tgcaccattt gtltcaactac tatgaagtaa aatgggtattc 10020
ccttctattg acatcgggtt agaagtgaaa ggccatctta atgcaatgtt ctcaatgcca 10080
caaaccaca aatttcatta acacatacag attattatta acatagctat aaattggatt 10140
tccagaagct tgagttgaat ttattttgtt acaattgaaa gcactgggaa cattagcatt 10200
tttttttagt tcttggttat tgcaatttat aatgttatac agaactgtgt acctcacaat 10260
gcattcatta tgacattcta tgaaccattt gattgactgt tgccttgtaa caacaggatg 10320
atgaggagtc tttgatgcaa ggagcacggg aagctgaaat gatgatcgta gaggcctatg 10380
cagcccttct tcttgcgttt ctttcaactg aaaggtttgc aatctgtagt tgatggattg 10440
ttttatlaat gtctaaactac ttgcataatg tcagcactat ggcatltaac ttatactgtc 10500
tgttaactgc aacagcatga aggttcgtgg agccatttcc agctgccttc caaataacag 10560
cttaaaaaac ctlttgccctg cgctagagaa atttgttggt tglctccata attcttgaac 10620
tactgtttgt ataaaaaagt atggatgac tttgaattta ctccattttg gaaatcatta 10680
atltttcatg tctgaggtgt gaggtgtcac cataattgta ctcccatcc aggaagcctg 10740
tttgcaaaat ttacataaaa taaggaaaat ttgaacttgt ttcaagtttg aatagtaaca 10800
ggatgtttta tttctcaact ggagaaaaca ttccggctgg gacttttaac ccttaaaatg 10860
ctagtgtgct cccactgtaa gattgtctgc tgtcacattt gaaactttgt gtaatacctt 10920
tatactacc cttgagatga gagacacaat ctggtaaccg gttaagttat tgataactcc 10980
cagttgaagt acagcaccaa atcaagcaa catgttggct acgtaattaa atgttctctt 11040
acaacagata gaggtaaaaa gggagtttct aagtatctaa cctcttacc ccttggctta 11100
gcactccagg cacaactctt tcttaacttg cgatttagga cttgactctg agaataattgt 11160
gtgcccacac tggttgagtg catgcctatc taagctgcta gttttgttc atlttgatta 11220
actctgaagc tgcctgagct taltctgctt ccatcattta ttaatccatc atgtttctct 11280

ttcagtcgtt ccatctgcag ctcaatatga tcacagagga aacgcactca gctgtcacag 11340
aagttaatga gaaatgcaaa ctttcataga aagagtgaag aggggcctgt acagatcaac 11400
taacaacctc ttgacagcaa aaaagcatac acacaagigt ttgtcttgge ctggggctct 11460
gcagatggac tgatactctg accitgcagt ggcttgggag ctaacaatgg ttctattctt 11520
ttttttttta tgttttcccc tgttgttttt gctcatgttt tgtgtaattt ttcttctca 11580
tctagcgaatg ttatttttct tagcatgatg ggagtagccc tccTTTTTTT ttctctaat 11640
taagtgtaaa gtagcaacag catagggatg aatgttcagt gtagtgtgtg gtgtttcagt 11700
tattcagaga cgtccataca gtttgtacct tgtgaccaca cgtcttaac tgatgaagct 11760
tagaataaat cacatgttag caatgcaata tcatctgcgt ctctctcac ttgggtggcc 11820
atcaaatctt gtgtagaagt gtaggttgg tgtgctgttg caaatgccgt attccgctct 11880
gttttgtgga agttaagaag tccctagtgt aaataccgat tttcatgat ctgggagatt 11940
gatgcaactc tgattgcagc atttcttttt attagaatgt acactccaatg ctatcatgat 12000
gtttattgtt tagtactaca agatttgggt aaccattatt ttaataicat aataatttta 12060
taaaatcttg gagtaacaag ttcataatac atgatagcat aacttttga ggctagtcta 12120
tgtatatgtt ctcttttgtt tttaaaactaa gcactcaata aattatgat ggctgtaatt 12180
ttctgaaggt ttaccgggt tgggccccgt ctttataaat agcttcggca caaaagacaa 12240
aacggtcctt ccaacacata aatgggtgag ttacgtttt cattatctt ggtaaaatca 12300
agtccaccac gtagacactc ataacaaaag ttigaatatc ctacagaaatt ttgacttgag 12360
tctatcttac ctttgataac ggacatccaa cctccctcc ctccctgaac ttatatttat 12420
tcatattaca cctgaacitt atattattca tattacacce tgaagtgggt ttcatittaat 12480
tgcatacatg ctgaaatagt ttgacaacgt gagatgcaca aaatctacac gtctgtctta 12540
agttgcaatt cattttatcc cttttctttt tctctcttac ataggaatat caatagtact 12600
aattcacatt acaatatagt ataaattgggt gatcgattat tggcaatata ctatatataa 12660
tattcaaaac tagtcattta agctgccaaa taagtaaac actatcgaaa accacaatat 12720
aaatggcatt acaaaactta ggggggtgaa tatccaattt taaagttcat gatgctagag 12780
gaatttctat caaaagtita tgggtacata tggacttttt ctttttttaa agaagctatt 12840
cttatcgtaa acgttaataa ttttttgtac ttattttttt atgattgaaa aaaaaactta 12900
gttttcaaaa tgattgggtc gtatacaagc atcaattaga cttaataaat tcatctaac 12960
gtttcctggc agaaactgta atttgttttt gttattagac tacgtttatt atttcaaatg 13020

tgtgtacgta tatccgatgt gacaacaaaa cccaaaaatt ttcctaact ccatgaggcc 13080
ttacagatai attigatggg tgtaaagttt tttaagtict tigggtgcaa agtttttaaa 13140
gtatacggac acacatttga agtattaaat atagacaaat aacaaaacat attacatatt 13200
ctgccigtta acaacgagac aaatttatta agcctaatta atctgtcatt agcaaacgtt 13260
tactgcagca tcacattgtc aaatcatagc gtaattaggc tcaaaaatat tcgtctcgta 13320
attiacatgc aaactgtgta attgggtttt tttttcgta acatttaata ctccatgcat 13380
gtccaaatat ttgatgcgat ctttttggcc aaattttgtt ggaatctaaa caaggatcaa 13440
atttgcigaa tttttccaga cgtcacggct tgttcatcca tcgttcgcat cgcgattcgc 13500
caccgacgcc ttggtttcca acgaatttta tcatccgctt aaatacatcc aaagctctcc 13560
atcgccatcg gcggccaaacg gcgaccgctc cgcctctacc aatccacca tccactcgcc 13620
gccgccccct gatccaaagc ctccgccgcg ccgcccgtga gaggaggagg aggaggagga 13680
ggaggaggag gaggcgtgag cccctatggg gaccctctc cggccgctc cgtctgcccc 13740
cgccgcccgc gccggcgacg ccacgccgtc gaccgcgcac ggtagccacg cgccctctga 13800
gaggcccccc ccccgccgct cgtgatctc tcttctcctc ctgtttgggt ttgggtttgt 13860
gatttgggtg tttttttttt tccgcagcgg tgggtggtag cggtggccgc ggccgtggcg 13920
tggagtgcc a gccgcatcg gtgcgccgc gcccggtcc gcaggttgcg gtggcgacgg 13980
cgagctggag gaggcggagg gagaccgtgg tgagatcgga tttcgccgct ggtggtgccg 14040
ctaccatggg ggattcgccg caggcgctct caggtttgca gccctctcca ctctctctc 14100
gcaaaatgtg ttgctatgtt cctctcgctg ggctggcctc atagccatta atgtagtttg 14160
ctggaacatt acattcgga cgttgtttggc aattgcttga caaaatgtgg aattgtggag 14220
gggagaaaaa tcgtttgaac ctgcagtgac aaaatlgcca tctataattt taaaactgaa 14280
ggtgtggaaa tcaaacataa tcattgccag cacatcattc ttgttaacca ccttgacata 14340
ttgttggcct ataacagtta gctccacacc aacttggag gtgtcaatgg aatgtaaagta 14400
taaattgagg ataactggca gtgttaaga ctttctacag aacttgtagc agctaaaact 14460
agctattgtg catttatgtt tcatggaatt tgagcggcaa tggataattc ttactaagac 14520
gtataatgca aaacaaaaaa aaaaaaaact atgctatgc agtttacatg taatgtgcgg 14580
atgcaaataa aatcatgttc atggacaaac taatgggatt cataccaaat tccagaattg 14640
catttcttat gtggttactt ttgtttgttg atttggttac cagacatcga tgtggtttca 14700
agggtcagag gggtttgcct ctacgcggtg actgcagttg cagcaatctt tttgtttgtc 14760

gccatgggtg tggttcatcc acttgtgctc ctatttgacc gataccggag gagagctcag 14820
cactacattg caaagatttg ggcaactctg acaatttcca tgttctacaa gcttgacgtc 14880
gagggaaatgg agaacctgcc accgaatagt agccctgctg tctatgttgc gaaccatcag 14940
agtttcttgg atatctatac ctttctaact ctaggaaggt gtttcaagtt tataagcaag 15000
acaagtatat ttatgttccc aattattgga tgggcaatgt atctcttagg agtaattcct 15060
ttgcggcgta tggacagcag gagccagctg gtaatggctgt agtctcatcc ctgctttctt 15120
aagtagacat atatacat tt acagtatttg gtaaaataaac aagattttat gaatcatata 15180
tgattttggg gaaaacacaa aactctcttt gttaggctgcc ttgaacatag ttctgttcac 15240
acagttatag caccttcttt aaaatgaaga actttgttgc atacacataa ggccaaacca 15300
cataatgaat ttgttttatt tctatctttg aatgttagca tegtitttgt ttaatgcatg 15360
atgccttcc tatatatatt tagtatgtca acattgtatt ccatgctgag cataacaaat 15420
ggtttgttaa aattcaggac tgtcttaaac ggtgtgtgga ttigtgtgaa aaaggagcat 15480
ctgtattttt ctttccagag gggactagaa gcaaagatgg aaagctaggt gcatttaagg 15540
ttcagtaacc aaacttaggt tacattacat ctaatgagat ttttataatc agtatataat 15600
gttaaccttc tcatgggtga ctgacgtggt tataaatgtc ccagagagg tgcattcagt 15660
gtggctacaa agaccgggtc tctgtgata cctattactc ttctcgggac agggaaactg 15720
atgccttctg gaatggaagg catccttaat tcagggtcag taaagctcat taticacat 15780
ccaattgaag ggaatgatgc tgagaaatta tgttctgaag caaggaaggt gatagctgac 15840
actcttattc taaacggtta tggagtgcac taaagaaaga tgggtgtttt ttttattata 15900
tggaacctat tcaaaggcac agacaggctt tcaaggctaa gcttgttaca ggtactgata 15960
ctagttacta attactttcg taatcagtat aaataagctt gtgtagtgt atggcattgt 16020
acatttctgc acttggtaaa ttacagaag aggcaagtaa tatittagag gattgagttt 16080
attcaccag tcatatagtt gaagaggcaa gtaacctgta agagaggact gaacattaac 16140
acctcttgtt cgattaaaaa tgaccaaaga gcatcaaaca tgtattcgag gctgttactt 16200
tagatatggc ccattaattt gtttagttgt ctatgtacat cctagttgggt gtaaattgcca 16260
gttaccattt ctatgatc aaacaatcaa ctcttttagt atattttcaa aaacgaaaat 16320
tcagtacaca tgtatgaatc ttaatatctt tctctagctc gttacaaaag caacaaaggc 16380
accgtgtcag ctggttcaca ttagctagtt tgtacttagc attatccact agcaccittat 16440
tttcatgcat atcatgctaa ttgtcttgcc cacgttgagt gggaattttt ttcatgtttt 16500

ataatttata taigtitttag acttctagtc cacaatttat gtacttcatg ttcctgagcc 16560
tctagtatgg ctgatagcag actagggtgct gagtgctgtc cttttttgca gactgaagag 16620
agaagaaata caagactgtc cattgttagt cagatttgta aaaatagact ctgatgtagt 16680
ttacttttgc ccctatttta tttttaacaa tacaaatata taacagatcc taagaactta 16740
tcttaattta ggagaagttg ctcgtttcat taaattaaat tgtgaagtaa aaatgtgtgc 16800
tcgagtcgtt caatgcaatc ctgtgttctt gtttgaagat atgggtgtagg gcaggccagg 16860
attgaacact gaatggtaag actgcttctg ccttcagacg ttatttgctaa attttttagct 16920
acttgcagtt agtgctgcca cgccgattaa gcagtagaac aaagtagttt tgtcgtgcac 16980
aaatgagtta tatttcattg gaaatcgaag cgaaaacgaa tcaaaagtta gaagaaaagg 17040
ggaaacttgg taattactcc ataaagagag tgcaatttat tggtaagatg giatccggaa 17100
gctgtgagct ccgggctgta tgtattctgg caaatttgat atgagatgct cgattattgg 17160
cttaagttag cgatatcaaa ttigggggaag caccaaagga attatigtga aggagttagt 17220
gggtgcgtgac gttatctgct aggttcaaat ccttgtggct atgaatatat atctgctagg 17280
ttcaaatcct agtgactatg aatattaatg ggtaaggtaa gggatttatt gtttaatttta 17340
gtttctttta gatgtgcca tcggacgcca ttcggtaact gtaataatgc tttgtattgg 17400
attcacttgt gttacatgca cgcactaaac atgtgcctta ccttttcatc tgtttttgcg 17460
ttctgggcta gaaactcaaa cgttgaattt tccatggctt gctcaacttg acaattactg 17520
cgtgtcaagc gatcttatac gcatactatg cgcacaagtg attgtatacg gatatgatga 17580
cagtataacg tgtgatattg atttttttta taaaaaaatg atgttccttt ccttgatgaa 17640
ggaacaaaga ctttttttta aagaagggtta ttactaaaaa caaaaatgac aaaaacaaaa 17700
tatcagtga catggcaagt gtgctcggca attttttctc tgtactttaa acaaaaatac 17760
ttctatatgt tcttttttat aagggtggca caaatctttt aaatgagcca aatatctaca 17820
ttggatttat taaaaactgt ataaattata atttatactc tgaaaggttg tgtgcatctc 17880
tcttggagaa aatgtataag ttgcaaacaa acattaatcc acgttatgta acittttttc 17940
gccggaaagg ccgaaggagg cctgacggag cgtggggctc ctcaccggga gaccgcgcag 18000
gcccccttt gccggttcgg ccggggactc agggtgaaat tctaagctct ctgtatgtgg 18060
aaggttcgcg accgtcgaag gagcataaga cacgggcgat gtatacaggt tcgggccgct 18120
gagaagcgta ataccttact cctgtgtttt ggggggatct gtgtatgaag gagctacaaa 18180
gtatgagcca gcctctccct tgttctgggt tccgaatctg gaaaagtcca gtccagtccc 18240

ccccctctaag tgggcaaggt cctccctttta tatlcttaagg ggataccaca tgcaccatct 18300
ccctcccttc tgggggact taccctacct ttccataaat ggacggagat ttgtatagtt 18360
gccgtccgaa tgacctctg ataggacggc ccataacctac ctccacttcc gccgaaagca 18420
gggtgcgacgt gggattatgg ctgtctgtctg acgacatgac cagtgtcaga ctggtcacaa 18480
attgtctatt cctgtccacc acgcgtcagt ttagcaatct acatgttggc ccttcttcac 18540
acaacatctt gccigttaatg gttaggatga agcctggcat atatctaacc aggactaacg 18600
tgccatctct aggaggtaac acgctagctc cagctgggga cgagcgccta gaagccctcg 18660
tccigacggg atggggcgag gcgtgcgtca gatcgctgt cgccacctaa cccgcgatct 18720
gaccggctg tgactggta cagaccggat aaacgagtgc actgcacttc gttacatgcc 18780
gcgtgacacg ctacgcaaaa ccgcaataaa tgggttagg tgagccccgc tgtgtcacc 18840
taaccatac acgcggagca aaaaccacg aggggtcggg gcgcctcggc cctcggggcc 18900
gaggcgggtg cggctccgacc cctcggggg gactaagagg agggcgaaca catcacctc 18960
gggccccgacg tccccgagg gtgccaggcc acgtgggcga ttgtgtctgc ctcaaacctc 19020
tagtcatgat actccigatc ccatgtcacc gacagtagcc cccggcgta tgccaggggcg 19080
atcgccctct ttaagggaag cggctcggcg tgacgccact cctaaggcct ggtgacaggt 19140
gggaccggtc tccacaattg ggcagaaacc caacggtcac aaatcacgca catcggcaat 19200
ggtaactcta ctatcaataa tgagcggctc ctccaagact gccacattac tcgagtagca 19260
cacgaatctg gacatggcga ttctgttctgt ctggagatat ggtaacgtcg ctttgggtcg 19320
cgagcgtaat taacgcgcgc acgatatgat ctatctcgac tgccacaacc gcataatccac 19380
ctcatgcgcc gcaagcgggc gaatgggatt agtgggaagcg tgggcgcgag aaacgagggg 19440
gcgaaatagt gggcgcgaga agcgaggagc cgggcacagc gttggcaaga gtataaaggc 19500
actgaggaaa ggatctgttt ccttcccttc gccatcattt cccttgtctt cgccgcttgc 19560
gccctaactc cttctttctt gtgtcttact ttccgccacac gcgctcgctc tcaatcttct 19620
cttccctcgg cgccatggca cggggctccg ctctgtctga tggtagcgtg ctgccgcctt 19680
cccgcatcgt gagcgagagg caggctgggc tgcgcgcgcg ctcatgcgc gaatctgcca 19740
ccggccggga galagtcacg ctgggtgagg gacgcccggc gccagactac ccggggcggt 19800
ccgtcttctt tctccccctt gcaatggcag ggctgggtcc gccattttct tctttcttca 19860
tggatgttct gaagtcttac gatctccaga tggcgcacct caccaccaac gcggtgatga 19920
cattggccat ctctgcgcgt ctgtgcgaga tgttcattgg ggtgcgcca tctcttcggc 19980

tggtccggig gttcttcacc gtgcagtcgg tglcgccgcc atcggtagtt ggtggctgct 20040
acttccagcc atgggggccc gtgctgaatc gctacatccc ctgcgccctc cgcaagaagt 20100
gggacgacig gaagagcgac tggttctaca ccccccctgc cgacgaagcg cgcccttgac 20160
ttccgagcca gccccggcg caggccctca gctggcgggc gccggtagat ctgggggatg 20220
gctatgacgc cgtccctgac cgccctggcgg gccctacgac ccaggggctc acaggggcca 20280
tgggtgtacgg cgactacctc cgtcgtcgga ttgcgccgct ccagcggcgc gctcggggcg 20340
cctgggagta caccgggicc gaagactaca tgaggacca ccagggagtc agatgggact 20400
gggctcciga ggatttcaag atagtggctc aacgggtgct gaatctcaac tccatggagg 20460
cgtccctcat tccccaagga atcctccctc tctgcagcga tccagaccgc gccctccatc 20520
tgaccattat gacggcggtc ggggcctcag aggagtgage tccaaagggc cagcagggcg 20580
caggcgggag ccgtaggggg gatcaatcta ccccgggagg gggctcgtgct tctgggtctc 20640
gcgacggagg cccgaggagc agccgccctg ccgacgcccg ggggaagagg aagcagggag 20700
gaacacctcc cccatctcct ccccgagggg gcggggcggt gcgtgccaac agcaggcgcc 20760
cggagggggc cgcgccgaca tgcagcccg agggggagcg caagaagaag cggtccgca 20820
agatggggga gacagaacca tctcggggaa accttatttc cctccaaag tggctcgttta 20880
accgaccccc tgcaggttc gtctctcacc catcgtggct gtattcatc tctcaacgcg 20940
agttttcact caccatctt gtctgtcttc tggctctttc ttctgtttca gcgagatccc 21000
gtcgcgtccc tcccgccatt ccaagtcagg ccagctcag gccgaggatc cggcggccgc 21060
agaggccccg aggcgggaat ctgaccggcg agaggccgc gatcgccctac gggaagccga 21120
ggaggccgcc caggaggccg cccgggctcg ccagggcgag gaaaccgctc gggaggaggc 21180
cgcccgggccc cgccaggccg aggaagccgc tcgggaggag gccgcccag cccaccaggc 21240
cgaggaagcc gctcgggaga aagccggatt tcgccaggac gaggcaatgg cgacttccga 21300
ggcagctcgc gatgaggctc cgggcgcgtc gcttgagccc gcttccctcg gcgacgctca 21360
ggcgacaact tccggggcag ctggcgacga ggctgcgggc gcgtcgcttg ggcccactcc 21420
ctcaggcgac gccaggacc aaccaggctt gagggacatc cccgagtcg gcacttccat 21480
cggcggcccc agccgcgtgg catcctctcc aaggcggctc ttccccacgc cttctatcgc 21540
cccgtgagc gcagagcccc ttctgcaggc cttggccgcc gcaaacaatc cggtgttgga 21600
cgggcttagt gccagggtgg aggccttgca agcagagtg gcggagctcg acgccgcgtg 21660
ggcgcgtgic gaggaggggc ggcgctcagt ggaggccaatg gtggagggtg gccgcaaggc 21720

acaccgccgg catgtctcgg agcttgaagc ccgtaagaag gtgtttggcgg aaatcgccaa 21780
ggaagtggag gaggagcggg gggctgccct cattgccacc agcgtgatga acgaggcgca 21840
ggacacccctc cgcccttcaat acgggagctg ggaggcggag ctagggaana agctcgacgc 21900
cgcccagggg gtgtttgacg ttgccgctgc ccgagaacag cgggcggggg agaccgaagc 21960
ggcgtcccgga cggcgcggaag agacccctga ggcgcgcgcc atggcgctgg aagagcgcg 22020
ctgcgtcgtg gagagggatc ttggcgaccg cgaggccgcc gtcactatcc gggaggcaac 22080
actggcggcg cacgagtcgg cctgtgccga agaggagtc gcactccgcc tccacgagga 22140
cgcgctcacc gagcgggagc gagctctcga ggaggccgag gccgcggcg 22200
ggacagccctg tccctccgcg aggcagcgca ggaggagcag gcgcgccgca ctctggaaatg 22260
tgtccgcgcc gagaggaccg cactaaacca gcgggcccgt gacctcgagg cgcgggagaa 22320
ggagctggac gcgaggcgcg gcagcggcgg ggcggctgcg ggcgaaaacg acttagccgc 22380
ccgcctcgtc gtgccgaac ataccatcgc cgatctgcag ggcacgctaa actcgtccgc 22440
cggggagggtc gaggccctcc gcttggcagg cgaggtaggg cccggcatgc ttitggacgc 22500
cgtctcccg 22560
gtacgccgcc aaccatggag gcctcgccca gcgcctctcg aagatggcgg gggctctcca 22620
acggctcccc gagagctcg agaagacaat taagtcaccc tcgagggacc tcgccaagg 22680
agcgggtggag ctctgtacgg cgagttacca ggccagggac cccaatttct ctccatggat 22740
ggcgctggat gagttccctc ctgggaccga ggacagcgcg cgcgcaggtc cgggatgccg 22800
ccgaccatac cgtccacagc ttcgagggtc cagccccctc gctcgcgttc gcccccaact 22860
ccgacgagga ggacaatgcc ggtgggtgcag acgacagtga cgatgaggcc ggcgaccgg 22920
gcgtatcgga ttgatcccc aagccccgc cattctcag tttttcttc ttttcttct 22980
tctaaggcct tcgggcctct tttttgtata gatcaactta atctgtaate aaaaatgaag 23040
aaatttttgt gtcaattica tcttgcctgt tgtatgagat gaggatgatc tgtgacgtgg 23100
tccttttgcg tcttagcttg attaagggtc cgtgcccagg tcccagtcct caaaaggcgt 23160
gggtcggggc tagtgccctg ggagatccac atgtcgagac tggccaggcc gggaacgtgg 23220
tgaccgaggg ttatgggtga cccgattgtg ggtttttgcc gattcccccc cggagttcac 23280
cacgccccgg ggcacggctc ggttctgggc cccgtttggc gatttttagcc gacccgagcc 23340
cccgagggca ggattgagca cgagtgcctt atttcaagtc aagattcttc aaaaggaaaa 23400
aaaaacacag atacagccct taggaaatg aaactgcctt tattgaaata ctgaaataag 23460

agaaataaga atgtgcatgt gtggcagccc ccggccaacc ctgcacgccc gagggggtgc 23520
ggggttggcc cgagcccgaa acctgacacc cgaccccccc cctcaggggt agaagcgacg 23580
aaggtgttcg atgttccacg ggttaggcag ctcaatgccg tcgcccgtgg ccagccgtat 23640
ggagcccggc cggggggacgc cgaccactcg atacggacce tcccacattg gtgagagctt 23700
gctcaatcca gcacgcgttt ggacgcggcg taggacgagg tcgtcgacgc agagtgatcg 23760
ggcccggacg tgacgctgat ggtagcgccg caggctctgc ttgtagcgcg cggctctgag 23820
ggccgcgcgt cgccttcgct ctccaagta gtcgagggtca tctctcgaa gctgatcttg 23880
atcagccctcg caglacatgg tggcccggagg agacctcagg gtgagctcgg atgggagaac 23940
cgcttccgcg ccgtagacga ggaagaaagg cgtttccccg gttgctcggc ttggigtagt 24000
tcggtttggc cagagcaccg ctggcaactc ctgatccat gaatcgccgt gcttcttgag 24060
tatgttgaag gtcttggttt taaggccttt gaggatttct gaattggcgc gctccacttg 24120
gccattgctt ctggggttggg caggtagaggc gaagcagagc ttgatgccca tgtcttcgca 24180
gtagtcgccg aagagttcac tagtgaattg ggtgccatta tccgtaataa tacggttagg 24240
cactccaaac cgggccgtga tgcccttaat gaatttaagt gcggagtgct tatcgatctt 24300
gacgaccgga taagcctcgg gccacttagt gaacttgtcg atcgcgacat acagatactc 24360
aaaccggccc ggggcccgcc taaacggctc caggatatcg agccccaga cagcaaatgg 24420
ccacgaaagt ggtatggctt gcagggcctg ggccggctga ttgatttgct tggcgtggaa 24480
ttgacacgct ctacatcgcc ggaccaggtc gaccgcatca ttgagagctg tcggccaata 24540
gaaaccctgg cgaaaagctt taccaaccaa ggtgcgcgag gcggagttgg ctcgcattc 24600
gccttcattg atatcggcaa gaagcacaac gccttgttcc cgaggaatgc acttcaggag 24660
gattccattt gccgcgcgcc gatagagggt ccttctacc agcacgtagc gtttggagat 24720
gcgatggacg cgttcactcc cttcgcggtc ctgggtaaa gtcttatctg tgagglatgc 24780
ttggatctcg gcaatccaag caatcaatct aagggagctg ggagcgctcc cctcgggtcc 24840
cgaggccctg acttcaacgg gcctcggggg ccggtcaggc gcgtccgtct cccctaaggg 24900
gtcgggtcgc gccgacggct gggcaagcct ttcttcaaag gcgcccgggt gggtctgggc 24960
tcgctgggac gcgagccgtg agagttcgtc ggcaatcatg ttatccgctc tgggcacatg 25020
ccgaagctca atcccgtaaa aatggcgctc catacgccgt acttggcgca cgtaggcgct 25080
catctgcggg tcagagcacc ggtacictt acagacttgg ttaacgacca gctgggagtc 25140
gcctaacacc aggaggcggc ggatccccag tccagctgcc actctgagtc cggcaaggag 25200

tccctcgtac tctgccatat tgttggtcgc tcgaaagtcg aggcggacca agtatctgag 25260
gacgtctccg ctccggagagg tcaacgtgac ccccgccaccg gcgcccctgaa gagacaggga 25320
gccgtcgaac tgcattaccc agtgggcggt gtgaggcagc tgcgaggggt ccgtgctggc 25380
ctcggggatt gagacgggct cgggagccgg ggtccactct gccacaaaat cggcgagagc 25440
ctggctcttg atagcgtggc gtgggtcaaa gtgcaaatcg aactcagaaa gttcgattgc 25500
ccatttcacc acccgctcctg taccgtctcg attatgcaag atttgaccga gggggtaaga 25560
cgtaaccaca gtgacccgat gcgcctggaa ataatggcgc agtttcctcg aggccatcag 25620
aatagcgtaa agcatcttct gggcctgagg gtaicgggtt ttggcgctcc ggagggcctc 25680
actaacaag tagacgggcc gctgcacctt tcggctggggc cgatcctctt cgctaggggc 25740
cgcatccctg gggcactctt cgtccaagca gccctgcggg gcgcacttgt ctctgtgtct 25800
gatgacctcg gggctggagg ataacagggg cggccttccc acagtggctt tggggccgtc 25860
ctgggggtca ggggcctcctg gcgtcgtcgg acaagcgggc aaagggccaa ctccggctgt 25920
caggggcctt aggcctccgt tcggctcggg ggccctctct cctgtctctt tcccgggtcg 25980
agtcagcaca gggttagcct cgggggtcaaa gggcgatagg tgcggccttc ccacagtggc 26040
ctcagggcct tcctgggggt cgggggctcc tagcacctc tgacaagcgg gcagagggcc 26100
aactccgtc gtccggggcc tcggggccacc gtccggctcg ggggcctctc ctccctgtc 26160
tctcccgggc caagtcggca cagggtgggg aagcgcgaaa tgagaattgt cctcatcgcg 26220
ctccacaacc aatgccgcac taactacttg cggggctcgc gctaagtaga gtagcaaggg 26280
ctcgtctggc tcggggcgca ccagaactgg gggagagctt agatacgct tcaactgggt 26340
gagggcattt tcagcttctt tcgtccaggt aaacggtccg gagcgtttga gaagcttaaa 26400
taagggtaac gccttctctc ccagcctcga tatgaaccga cttagggcgg catgcaacc 26460
ggtgacgtat tgcacatccc taagtttgtt gggggggcgc atccgtctta tagcccgtat 26520
cttctcgggg ttggcctcaa tgccccgggc agagaccaag aacccgagaa gcttgccgc 26580
aggtacaccg aacacacact tatcggggtt taattttatg cgggcggagc ggagactctc 26640
aaaagtttcc gctagatcta tgagtaacgt ttcttggttg cgcgtcttta caaccaagtc 26700
atcgacataa gcttcaatat tacgtcctaa ttggctaccc aaagaaattc gagtagtacg 26760
ttgaaaagta ggacctgcat tctttaaccc gaagggcatt gtcgtataac aataggttcc 26820
tatgggggtat atgaacgcag ttttttctc atccctcccta gccatgcgaa tctgatggia 26880
accagagtat gcatctagaa aacacaaaag gtcgcacccc gcagtggagt cgacaatctg 26940

atctatgcga ggcagggggt aaggatcctt aggacatgcc ttgttaaggt cggtagtagtc 27000
gatgcacatc cgaagcttgc cgttcgccctt gggaacgacc accgggttcg ctagccactc 27060
ggcgggggttg acgctgccat catatititc ggcgatgggt ggccggaacc ttggggggcca 27120
acggacattc cgaagactcg ccacaaaggc tctacagccg acaccaccaa ccggggggcac 27180
ggagggctga tccccgcgc cgtgttgagg tgacactctg gacgaggaag cgccctccgt 27240
tgcgtgggca gcacttcggt cattacgccg gcgctcgatg ctggtagcgg cgtccggccc 27300
cccacgcaga tctttctggg tcgaaggagt cgacgaagga gtggcgggccg aatggcgaac 27360
agcggctgcc gctcgtcgtg cctccgtctt tgacgacgcg gagccggtgg tagcagcacc 27420
agaggccctg gtggcggagg accgcccacc agcatctagg cgctgccgta ccgcatgac 27480
taatttggcc acgtcgtcca gccatcgttg ggctggagac tccgggtcag ggacgacagg 27540
cgggtgacgt aagagcgcgc ccgcagcttg gagcgcgccc tggggcgtgc tgcctcgc 27600
gtagacgagg aggcgacgt ccccatctcg ccgttcttct ccatcgcccg cgatcggtga 27660
agtcgcggat ctttcgacct tctcgagcgc ctccccccgc ttaggacttt ggctggagg 27720
gagcgggtga gtacgagctc gacggcgttg gttcggctcc ccgtcgtcgc cactcacact 27780
cggagagagg tcgtgcgcct ttgcttgctc ggccatcagg ctgaacagga aaagcttggc 27840
gcacacggaa gactacgaga gctcagaaaa acacacactg agtcccctac ctggcgcgcc 27900
agatgacgga gcgtggggct cctcaccggg agaccgcgca ggccccctt tgcgggttcg 27960
gccggggact cagggtgaaa ttctaaagct tctgtatgtg gaaggttcgc gaccgtcgaa 28020
agagcataag acacgggcga tgtatacagg ttccgggccg tgagaagcgt aataccctac 28080
tccttgtttt tgggggggatc tgtgtatgaa ggagctacaa agtatgagcc agcctctccc 28140
ttgttctggg ttccgaatct ggaaaagtc agtccagtc cccctctaa gtgggcaagg 28200
tcctcctttt atatcttaag gggataccac atgcacatc tccctccttt ctgtggggac 28260
ttaccctacc ttttcataaa tggacggaga ttgtatagt tgccgtccga atgaccttct 28320
gataggacgg ccataccia cctccacttc cgccgaaagc aggtgcgacg tgggattatg 28380
gctgtctgct gacgacatga ccagtgtcag actggtcaca aattgctcat tcctgtccac 28440
cacgcgtcag ttiagcaatc tacatgttgg cccttcttca cacaacatct tgccgtgta 28500
ggttaggatg aagcctggca tatatciaac caggactaac gtgccatctc taggaggtaa 28560
cacgctagct ccagctgggg acgagcgctt agaagccctc gtcctgacgg gatggggcga 28620
ggcgtgcgc agatcgcccg tcgccacct acccgcgatc tgaccggtct gtgactggtc 28680

acagaccgga taaacgagtg cacigcacit cgttacatgc ggcgtgacac gctcagccaa 28740
accgcaataa atgtgggttag gtgagccccg ctgtgtctac ctaaccataa cacgcggagc 28800
aaaaaccac gaggggtcgg ggcgccctcg ccttcggggc cgaggcgggt gcggtcggac 28860
cccttcgggg ggactaagag gagggcgaac acatcacctt cgggccccgac gtcccccgag 28920
ggtgccaggc cacgtgggcg attgtgtctg cctcaaacct ctagtcatga tactccctgat 28980
cccatgtcat cgacaaggcc atccgaatgt attaaggagt aaaagttaca agaaaaaaca 29040
ccacaatgca ccaagggtgca tgaccacaca ccatacacta cccccaagca caaaccactg 29100
agggtgaagc ctagcaccaa acgaccgcca ctaagtgtga ccaaacgccg ctaggcctac 29160
ggcagcaaca catagatgag acttcgaaaa cgatgccacc aagggtgtca cgacatgtag 29220
gatgtctgca tcttccatct aaaaagatgt ggttttcacc cagagaaact catcaagaag 29280
gggagagggt aaccttgac agcgcccaa ggaggttacg acgcccgaag gcgtagccgc 29340
tgccggtccg gtgaaccacc ggactaggct tccgcctagg acctatagc ctigtatgca 29400
gatcacggc caccaticag aaccaccaca cagacaaaag gtagcacgta gcttccaccg 29460
caccgcaccg acgccccctt gtcggccgac tccatcgaac caccatccct gagagctggc 29520
ccaggacccc tccgttccac caccgcggc cgccttgcc agttttggcc aaaggagaac 29580
ccgggactgg gtgacattgc ttcggcagcc tgagcttccc ccgctggcga gctgtctgt 29640
caatccaacc tagaaactcc ccgcaaaaga aggggatgag ctctaggaag ggcgagggtg 29700
ccgaccggca acgaggaaga caaccatcg actccagctc cctttgact accatctggg 29760
cctgcgcaa tgccggatac gctgtctctc cggctccggc gccaccacc tgcacccct 29820
ttgcctggc tccgcgcccc tcctggctgc gtcgcgccc ccagctggcc gctaagggca 29880
ccacgacggc cgccccgcta ccgaggcctg gccgcgccat gggacagctc gcgctggcac 29940
cagcgagcca cgcccgctgc gctgttgccg gcgccagcga gcacaaccgc cagctccaag 30000
ggccgagcat gccactgagc cgccgccgt gccgcccgg cggcctgcac gtcaccggcg 30060
cacacgaccg cacgccgcca cgctccgct cgcgcccga ggcagccca tgccattgcc 30120
gcgcacctcg cccgcccgt gccgagccgc caccgcgcac ctgtctgagc cgccaccgcc 30180
gtccctagcc gctctgtgcc gccgccacgc cagatccagg cgcgggatgg ccgatccgg 30240
ccttgggggc gccggatccg ccgcctccc acaccgccac ggcgtcacca cctccgaccg 30300
cagtgagggc ttcgtcgttt gcccacccct catcgctcg aggaggaaga cgccaagaaa 30360
aaagggcctc gccgtgcct tccttgctcg ctgccggctt cgccgccggc gagctccggc 30420

ggcggcgagg tgggggagaa gaagtgggga gtgggcagct aggggttttt cgcccccaa 30480
gccgcccgtg cgagagcgac ggtggggggg gggggacttt ccaacctctt ccagtgttct 30540
agtctccac gttatgtaac tcaatttgtt taaccataga aagtaagaaa cctaccagcg 30600
tgttaagctc tctttcattc cttttcttct tcttggtttt gcttccatca catgtcaagt 30660
gaagggttct taactacat tactcctaca catctaattt tttctcaga tctttcgcag 30720
gtatataatg atgtacatt ttatgatctt aagataatct cttcacatt acctctgct 30780
gaaactttag ctggaaccgt catcttcacc acaatttgag cccaatttgc acagagcaca 30840
acgagcaata gcttgcctt acgttcatta tttagcatga actactacta actaccaag 30900
aatcaataca ccggtttaat aacgccattt tatcacgtta atatatgttt cattcaacac 30960
accggttttg gcacagtgc aaacttgcaa taaattcttt cctacttctc catcccataa 31020
tataacaaat tggatgtct cgtctggtac taagtigcta tattatgaga tggagggagc 31080
acttcttttc ttccaaaata taagaatata gtattggatt agatattatc tagattcacg 31140
aattcgatta ggttgtctag atttatagtt gtatgtaatg tataattcgg taataggtta 31200
ttacctctcg ggaaggagg agtagtttg actttttttt ttcttataaa tcgctttgat 31260
ttttatatta gtcaaatttt atcgagtta actaagtta tagaaaaaa ttagcaacat 31320
ttaagcacca cactagtttc attaaattta gcatggaata tattttgata atatatgtt 31380
tctgtgttaa aaatgtgct atatttttct ataaacgtag tcaaatttaa ataagttaga 31440
ctaaaaaaa tcaaaacgac ttataaatg aaatggagga agtagtagac tataacaaat 31500
ttaaacctg ctttgatttt agagcatcac taatatgtta gcaataatct atccctaaaa 31560
ttttttttt ttcttaaaact gaaaatagga agtggaata ctctccatc taagagagag 31620
cctaaatca ataaaaaact aaaaaactaa aggtggatcc ctctattaaa ctaccgcaa 31680
aaatttatgt ttttttctc ttccacgcgc gcagaacaga tatctcgatc aagttagcat 31740
gtaaaatttt taaagagata ccttatacga ctcttccgt atttccaaa gcaaacggat 31800
ttaaaatctg actcaaataa agatctatat atccaattta catgacacat gtttcgccga 31860
atttttatat taataataat taatatttt aaaattaaat tattagcaat ttgtttggag 31920
gatttatcaa aacaggatgg acgttgttta taacagcgtc tagacctaga cgcgttgca 31980
aactgcggcc accttttat cacacaaatt ttgacaatt tgacactttc caaaaattaa 32040
ttttataaat taaccgtgac caaaacttat ttaaaaataa tctttttgtt gagcgcaaaa 32100
tcgtataact cagegcctaaa tagcacggcg ccgacctccc ccttccctc cctctatcc 32160

tccactgcig cgcgccacct ctccgtatca gctgcgtcgc gttgggtttcc gccggcgctg 32220
ctgctgcigc accagtcgcg tagggcgggc gggcatggcg cgccgcgccg ctccccgcgt 32280
ccgcgccggc gctgttggcg cccctcgctc ggagggctcg acccaagggc gagggggccg 32340
cacggggggc agtggcgccg aggacgcacg ccacgtgttc gacgaattgc tccggcgtagg 32400
caggggcgcc tcgatctacg gcttgaactg cgccctcgcc gacgtcgcgc gtcacagccc 32460
cgcgggccgc gtgtcccgct acaaccgcgt ggcccgagcc ggccgccgacg aggttaactcc 32520
caacttgtgc acctacggca ttctcatcgg ttccctgcigc tgcgcggggc gcttggacct 32580
cggtttcgcg gccctgggca atgtcattaa gaagggattt agagtggacg ccatcgccctt 32640
cactcctctg ctcaagggcc tctgtgctga caagaggacg agcgacgcaa tggacatagt 32700
gtcccgcaga atgaccagc ttggctgcat accaaatgtc ttctcctaca atattcttct 32760
caaggggctg tgtgatgaga acagaagcca agaagctctc gagctgctcc aaatgatgcc 32820
tgatgatgga ggtgacigcc cacctgatgt ggtgtcgtat accactgtca tcaatggctt 32880
cttcaaggag ggggatctgg acaaagctta cggtacatac catgaaatgc tggaccgggg 32940
gatttiacca aatgttgtta cctacagctc tattiattgt gcgttaigca aggtcaagc 33000
tatggacaaa gccatggagg tacttaccag catgggttaag aatgggtgtca tgcctaattg 33060
caggacgtat aatagtatcg tgcatgggta ttgccttca gggcagccga aagaggctat 33120
tggatttctc aaaaagatgc acagtgatgg tgtcgaacca gatgttgtta cttataactc 33180
gtcatggat tatctttgca agaacggaag atgcacggaa gctagaaaga tgttcgattc 33240
tatgaccaag aggggcctaa agcctgaaat tactacctat ggtaccctgc ttcaggggta 33300
tgctaccaaaa ggagcccttg ttgagatgca tggctctctg gatttgatgg tacgaaacgg 33360
tatccacct aatcattatg ttttcagcat tctaatatgt gcatacgcta aacaagggaa 33420
agtagatcag gcaatgcttg tgttcagcaa aatgaggcag caaggattga atccggatac 33480
agtgacctat ggaacagtta taggcatact ttgcaagtca ggcagagtag aagatgctat 33540
gcgttatitt gagcagatga tcgatgaaag actaagccct ggcaacattg tttataactc 33600
cctaattcat agtctctgta tctttgacaa atgggacaag gctaaagagt taattcttga 33660
aatgttggat cgaggcatct gtcigggacac tattttcttt aattcaataa ttgacagtca 33720
ttgcaaagaa gggaggggta tagaatctga aaaactcttt gacctgatgg tacgtattgg 33780
tgtgaagccc gataicatta cgtacagtac tctcatcgat ggatattgct tggcaggtaa 33840
gatggatgaa gcaacgaagt tacttgccag catggctca gttggaatga aacctgattg 33900

tgttacatat aatactttga ttaatggcta ctgtaaaatt agcaggatgg aagatgcgtt 33960
agttcttttt agggagatgg agagcagtgg tgttagtcct gatattatta cgtataatat 34020
aattctgcaa ggttttatttc aaaccagaag aactgctgct gcaaaagaac tctatgtcgg 34080
gattaccgaa agtggaacgc agcttgaact tagcacatac aacataatcc ttcatgggct 34140
ttgcaaaaac aatctcactg acgaggcact tcgaatgttt cagaacctat gtttgacgga 34200
tttacagctg gagactagga cttttaacat tatgattggg gcattgctta aagttggcag 34260
aaatgatgaa gccaaaggatt tgtttgcagc tctctcggct aacggtttag tgccagatgt 34320
taggacctac agtttaatgg cagaaaatct tatagagcag gggttgctag aagaattgga 34380
tgatctatit ctttcaatgg aggagaatgg ctgtactgcc aactcccga tgctaaattc 34440
catgttagg aaactgttac agaggggtga tataaccagg gctggcactt acctgttcat 34500
gattgatgag aagcacttct cctcgaagc atccactgct tccttgtttt tagatctttt 34560
gtctggggga aaatatcaag aatatcatag gtttctccct gaaaaatata agtccittat 34620
agaatctttg agctgctgaa gccttttgca gctttgaaat tctgtgttgg agtctttttc 34680
tcctacagtt gtattagagg agggatcttc tctttaatgtg taaatagcga ggtatgtatg 34740
tcacctctcc gaattatitt tactctgggt cctagacggt aaacaagcaa ttatgttctg 34800
cctttgatgc cagaaaaaac acaaaagtgt gtctgtatct ctactaacgg atcataaagg 34860
aatttgtaac tggagtttca aacttaattt gtctaggcag tagttttggc attagatcca 34920
acattgtgta ggattcatit gtgtgtatca atctataggg tticattaaa tticgttaat 34980
gtgtactgtt taggtgttga atagtttgac ttgtttttta actgaacaaa agatactgaa 35040
atcgttccat tcaacaaaca catgttccgt taatgaaatt attgtacgtt accttttgtt 35100
ttcttactca caagtgtcct cttttcttat atcctataga ttgggtacaac aaattattga 35160
ttcaattttg gttttgaaca ttgatgatcc tcccgtcact attgggtgcag ctgctcttct 35220
attcattttg tgaagtgatg tgagtacctc tcaatcccat ccttatgctt ctgigcatgc 35280
ttcatcccaa ttttttacgc atatcgattg ttttctttta tataacagtc cataaagata 35340
atcacatcat gacaaagtta tttatttcta cagtatagtt atataagtat tcaccagttt 35400
tccatgaata ttttggcatg tgattacaaa gaagattatt tgagaaaaac catgctttta 35460
tttcatcttt ttgtttgaag ttgaacttta atttatgggtg taaatttcag ttattattgc 35520
tagcagctcg tactctttta tgggtataact tcacttgtgc ttattctcca atatctccct 35580
tcttgttgtt caggttcaag aaaatcattt gttggattca gaatcgggtg tccattttct 35640

tcttaaatta ttaaatectc cagtgaatct tgttgattcc aaagcaccaat cgatagggttc 35700
caaaacttctt ggaatcagta aagttcaaat gcttaatgga tcaaataagg attctgactg 35760
catttcagag gaaatccitt caaaagttga agagattctc ttaagctgtc aagtgatcaa 35820
gtcgtctgac aaagatgaca agaaaacaac aaggccagaa ctgtgtccaa agtggcttgc 35880
tttgttgaca atggaaaatg catgcttgtc tgcgtittca gtagagggtta agttttaate 35940
aaatttcttg gtcattgatt ccccttatga ccattatatt tatattatag agccaaataa 36000
gcagttgtca acttgtcata agttacatag cacctatttg caataattcat gggtaggtttg 36060
cttagccctt ttcttcacct gcttttgatt gatgacttcc atctgtgttg cagaattgaa 36120
ttggagtagt ggactgcact agaagcacct atggccattg tcatactagg aaggttttcc 36180
cttatcaaat atttgattgt tacagagact tctgacacag tgtccagagt tggaggaaat 36240
tttaaagaga cattaaaggga gatgggaggt cttagatagta tttttgacgt tatggtggat 36300
tttcattcaa cattggaggt gagatctcgc taacatcgca tattttacct ttcccttggt 36360
caactctaata ggattgtgca ggcttgttcc ttttcgccat ttttagcttta atgtgcttga 36420
agccacatga aagtaatgct tgtccagata catagccaaa ggttgttata ttttggggca 36480
tggaaaatgc ttgaggtagt aactattttc atcaggacat ggaaaattgg ctgcaacaca 36540
aattatgttg ttttatgttg caaaaatagt tttttaatac ttttttattc tgcatgtggt 36600
gttagtatct tacagttcct ctgatgatta tatccccac gataataaca cttgaaacga 36660
taataacact tgacatatct acaccaagtg aacattattc atttggatgt tacttttcca 36720
gctatacttg ctgttcttgc atgtgtaagc aagtttggag taaattgcgc attaatTTAA 36780
atgcttgggt ttcttatctg tgtacttttt attccccaac taataatgca atcataattc 36840
gctgataaac tgaataaata aattaacaat atacttctgg tggcaaacct tgtglatcag 36900
aatctcataa aggatacatc cacttcagct ttggaccgaa atgaaggaa atctttgcaa 36960
agtgtgtctc tctcttgaa atgtttgaaa atattggaaa atgccaattt tctaagcgat 37020
gataacaagg taatgtcct tatatgttct gtttcagttt agtaccattt tcttcttct 37080
gtactatctt ctctctgat ttgttctgtg caaaatgtgc aaacagtgcg acttltgatg 37140
tctgcttaac aattttcttt tcttcttgaa aaagcaatat gaactcttac attcattttg 37200
cttcttgcag acccatttgc ttaataigag tagaaaattg aaccgaaac gctccttgc 37260
ttcttttggt ggtgtcatta tcaatactat tgagttatta tcaggtaattt ttcttaataa 37320
tacaatgtgt tgcctaacac aataaaatgt tttaaacatc cagtatgtta aagttgcagt 37380

ctgacgccta ttttgttttg ctgcagctct ttcaatactt cagaattctt ctgttgtttc 37440
 cagctctaca tatccgaaat cgtctaaagt ctctcaacag agttactctg gtaataacaa 37500
 acaccaatit tgtttgatca gttgatctcg ttggcttttc tatgcactgt ctcaatatag 37560
 tttggtcgcc attcaagctt cactacagat gttgaacttg gcctgacacc aaatatattat 37620
 aaaatgctac ctgatatitt taatatitca tgtttcctga cccagattat cttgttgggt 37680
 cctcgtataa gtttaattag tgacattctt gaagctttgt tatgcagcag atgtcatggg 37740
 gggaacttca tttaatgatg gaaagagcaa gaactcgaaa aaaaaaaact tttgtcgaac 37800
 cagacacgtc attgttgcit atcttcaaaa tcagaagttt ctcatattac tatacttctt 37860
 ggtagtgatg ctggctctgc acagaaggca ttcaatigt tctcatttat atcaagcaat 37920
 ggggcatcaa gtgggtcatt aggcgagagg cacagcaatg gtagtgggtt gaagtigaat 37980
 ataaaaaagg atcgtggcaa tgcaaatcca attagaggct caactggatg gatttcaata 38040
 agagcgcaca gtctgatgg gaactccaga gaaatggcaa aaagactccg tctatcttaa 38100
 aatgtaatca ccgacagtgg tgggtggatg gaccttttg catttgaccg ccgcgtcggc 38160
 gtgccacca cgtaatcgcc cactcgtcgc ccccgctgc cactcgtcg accgcgcacg 38220
 gtaatcacac gcactcagag gccgccgcta gctgatctt tctcatccgg ttgatttgtg 38280
 attttggcgt ttttgcagtg gtgatggcgg ggggcgaccg tggccgaggc gtggagtgcc 38340
 atccgcatca ggggtgatcg gccgcgtcgc tccgccctgg tccgcaggct ttggcggcga 38400
 gctggcggcg gagggagact gtggtagat cggatttcgc cgttgggtgt gtgcctacca 38460
 tgggggattc gccgcaggcg ctctcagggt tgcagcctcc tccactctct tccctttttt 38520
 attttttttt ctgcaaaaat gtgttgtgat gtctgtctcg ctgggcaggc ctcatagcca 38580
 ttaatgtagt ttgctggaac atttacattt ggaacgttgt tggcaattgc ttgacaaaat 38640
 gtggaattgt ggaggggaga aaaatcattt gaacctgcag tgacaaaatt gccatctcta 38700
 atttttaaac tgaaggigtg gaaatcaaac ataatcattg ccagcgcata attcttgtta 38760
 accacatga tatattgttg gttataacag tiagctccac accaaccttg aagggtgcaa 38820
 tagaatgttt agtataaatt gaggagaaca ggcagtigt t aagactttct aaagaacttg 38880
 tagcagctaa tactagctat tgtgcatttg tgtttcatgg aatttgagca gcaatggata 38940
 tttcttacta agatgtatga tgcaaaaaca aaaactatgt ctatacagtt tacatgtaat 39000
 gtgcggatgc aaataaaatc atgtacatgg acaaactcat gggattcata ccgaattcca 39060
 gaattgcatt tcttatgttg ttacttttgt tgttgatttg gttaccagac atcgatgtga 39120

tttcaagggt cagaggggtt tgcttctacg cggtaggctgc agttgcagca atctttttgt 39180
ttgtcgccat ggttgttggt catccacttg tgctcctatt tgaccgatac cggaggagag 39240
ttcaggaaaa aaatttgaaa ataccattt tttgaaaaag atttacgttt atatacacta 39300
gtatgaagaa tttagcaaaa tataactaat ccgcagatcg gttatgcggg agcgcaacaa 39360
aagtatggcg tggcggcgcg gaggtagcgg ccgaggcggt cgcgcggaat ggggctgcgg 39420
gaccgagcca gtctcgcttg ccgtaacgc ggaaccggta cgctcccga gcgccagtgt 39480
gcggaaccgc ggcgccaaca tttttttact gcatggcact gtgtttaata ctgtttgaca 39540
ctgtttctgg tactgtttta cacagtccc gggtcagttc cgcacaatgg aggcgcgga 39600
ccgaccatga acaatgtgtg aacagtgtg cacagggtta aaacagtgt taaactgcgc 39660
tgcacagtgc tggagtcgct ggccactgcg gtcccgcggt ttggaaccgc gggaccgtcg 39720
cgattccgcg ttttggagct gccggacat gacggttccg cgcaggatcg tcggtcccgt 39780
atittgaatc tgcggaaccg tcgctgtccc gcgtttccgt ttgcgggat gcgtatattt 39840
ttataaaacc tctccatgca tgtatataaa cataaattat tgaaaaata agtatatttg 39900
caaatttttt tcgagagctc agcactacat tgcaaagatt tgggcaactc tgacaatttc 39960
catgttctac aagcttgacg tcgagggaat ggagaacctg ccaccgaata gtagccctgc 40020
tatctatgtt gcgaaccatc agagtttttt ggatatctat acccttctaa ctctaggaag 40080
gtgtttcaag ttataagca agacaagtat atttatgttc cgaattattt gatgggcaat 40140
gtatctctta ggagtaattc ctttgcggcg tatggacagc aggagccagc tggtaggct 40200
gtagtctcat cctgtcttc ttaagtagac atataigcaa ttacagaatt tggtaaacaa 40260
acaagatttt atgaatcata tatgattttg gggaaaacac caaactctct ttggtggctg 40320
ccttgaacat agttctattc acacagtat agcaccttct ttaaaatgaa gaactttgtt 40380
gcatacacat atggccaaac cacataatga attttgitta ttctatctt tgaatgttag 40440
caccttattt tcatgcatat catgctaatt tgcttgccca cgttgagtgg gaattttttt 40500
ccatgtttta taatttatai atgttctaga ctctagtc cacaatttat tacttcatgt 40560
tcctgagcct ctagtatggc tggtagcaga ctaggtgctg agtgcgttc atttttgcag 40620
actgaagaga ggagaaatac aggactgtcc gtgttagtc agatttgtaa aaatagactc 40680
tgatgtagtt tatttttagcc cctattttat atttaacaat acaaataat aacgtatcct 40740
aagaacitat cgtaatttag gagaagttgc tcgtttcatt aaattaaact gtgaagtaaa 40800
aatgtgtgct cgagtcgtc aatgcaatcc tgtgttcttg tttagaagata tggtagtagg 40860

caggctagga tcgaacactg aatggtaaga ctgcttctgc cttcatttgt gcacttgggtg 40920
ctgccacgcc gattaagcag tagaacaag taattttgtc gtgcacaaat gagttataatt 40980
tcattgaaaa tcgaagtga aatgaacca aagatagaag aaaaggggaa acttggtaaat 41040
tatatactcc acaaatttat tggtaagatt tgatattaga cgctcgatt cttggcctaa 41100
gttaaggata tcaaatttgg ggaagcacca aaggaattat tgtgaaggag ttgtgggtgc 41160
ataacgttat ctactagggt caaatcctag tgactatgaa tattaatgag taaggtaagg 41220
gattttattgt taattttagt ttctttaaga ttgtgtccgg gtacaccatt cggtaagtgt 41280
aataatgttt tgtattggat tcacttgtgt tacgtgcatg tgatttacct tticatttgt 41340
ttctgcgttc tgggtatgaa tttagcgaga ttccatggtc agctcaacat atcagttact 41400
gcggtgcaag cgatcttata tgggtatgcgc acaagcgatt gtatacggat atgacagtat 41460
aacgtgtgat attgatacga tgttcccttc ctttataaag gaacaaagac ttttttaaaa 41520
aaaagaaggg gtattactaa aaacaaaaat gtcaaaaaca aaatatcagt gcacatggca 41580
agtgtgcacg agcaatagct tgcccttacg ttcatatttt agcatgtact actactaact 41640
acgcaaaaaat caattcacgg attattaaac tgttaacatc attttagcac gttaacatat 41700
gtttcattca acacaccggt tttaggcacat ttacaaactt gcaaagttgc aatactccct 41760
tcgttacata gcataagaga ttttaggtga atgtgacaca tctatccaaa ttcatataac 41820
tagaatgtat caccgccctc acgccgggag ggagagcgcc gccggtggag aaagggggag 41880
ggagtggctc aggggaacca gtaggggtgc ctcgccgtcg ccgcctcccc gtggccgcgc 41940
cggcgagaca ggaggaagag ggggatatgg agcggcgccg ccggtgaggg cgcgcgcgcg 42000
ggggggagcg gcgacgccgg tgaggaaggg aaggggagtg gtggccttga gagagatagg 42060
ggggaggaaa aatgatitaa gagttagggt ttgggcctgt gagtttttat atagatcggg 42120
atcaatcagg accgtccatc agatcggaca actacggctt ctcgccgttt gggccgggtg 42180
ccactcctag gttgcccaca ctattgggcc acatgtacgc tccgcgtgaa ataagttcac 42240
tttaggtcct ttaagttgcc tctgaattgt tcccaggcgg gccgcactat tgggccaccc 42300
cataggccat gtgtacgctc cgcacagaat aatttcgctt tagctccctt aatttgtccc 42360
ctcaaacctc taaaaccagt gcaaactctt aatttttagt tcacccattg caactcacgg 42420
gcataatttg tagtgacata taatatgaaa cgaaggatgt agcagactat agaattttaa 42480
ctgtgccttc attttagagc atcactaact gttattitaga tttttattta aataaatgct 42540
gaaatgatgt ttttattatg aaaattagca ataaagctcc caaaatttca aaaaaaatt 42600

aaaagagatt tattaatcat ggttaattta attaaaaatt aaatctaacc atatcatatt 42660
atttcacggt ccgtgatgag gaaatggcag ctgctatcac ttacgggtggg agagaagggg 42720
cattgtttat ttttataact atctcttata actcccatga aactataaaa taaatataat 42780
cattatcata acattagitt tttttccatt gcaacgcaag ggtaatTTTT cagtacaata 42840
aaaaaataa aagtgggcca ttctgaacgg aaatttctgg ttttttttcc caagagcgcc 42900
gcacacaact gcgcaagaga tcgatcgca tcacctgct cgtcgccgat ctccctacacc 42960
atccctgcc a tctccttccc ctccactggc tgctgctgca cctgtcagct agggcgggca 43020
tggcgcgccg cgccgcttcc cgcgcgtctg gcgcccctcg ctcgaggggc tcgatccaag 43080
ggcgaggggg ccgcgcgggg ggcagtggcg gtggcgcgga ggacgcacgc cacgtgttcg 43140
acgaattgct ccgtcgtggc ataccagatg tcttctccta caatattctt ctcaacgggc 43200
tgttgtatga gaacagaagc caagaagctc tcgagttact gcacataatg gctgatgatg 43260
gaggigactg cccacctgat gtgggtgctg acagcacgt catcaatggc ttcttcaagg 43320
agggggatct ggacaaaatg ctgaccaga ggatttcgcc aaatgttgtg acctacaact 43380
ctattaitgc tgcgctatgc aaggctcaaa ctgtggacaa ggccatggag gtacttacca 43440
ccatggttaa gagtgggtgc atgcctgatt gcatgacata taatagtatt gtgcatgggt 43500
tttgctcttc agggcagccg aaagaggcta ttgtatttct caaaaagaatg cgcagtgatg 43560
gtgtcgaacc agatgttgtt acttataact cgctcatgga ttatctttgc aagaacggaa 43620
gatgcacgga agcaagaaag atttitgatt ctatgaccaa gaggggacct aagcctgata 43680
ttactacct a tggtaacctg cttcaggggt atgctacca aggagccctt gttgagatgc 43740
atggctctct ggatttgatg gtacgaaacg gtatccacc taatcattat gttttcagca 43800
ttctagtatg tgcatacgct aaacaagaga aagtagaaga ggcaatgctt gtattcagca 43860
aatgaggca gcaaggattg aatccgaatg cagtgcacta tggaacagtt atagatgtac 43920
tttgcaagtc aggtagagta gaagatgcta tgcctttatt tgagcagatg atcgatgaag 43980
gactaagacc tgacagcatt gtttataact ccctaattca tagtctctgt atctttgaca 44040
aatgggagaa ggctgaagag ttatttcttg aaatgttgga tcgaggcatc tgtcttagca 44100
ctattttctt taattcaata attgacagtc attgcaaaga agggagggtt atagaatctg 44160
gaaaactctt tgacttgatg gtacgaattg gtgtgaagcc cgatatcatt acccttggca 44220
ggtaagatgg atgaagcaat gaagttaatt tctggcatgg tctcagttgg gttgaaacct 44280
aatactgtta ctatagcac ttigattaat ggctactgca aaattagtag gatggaagac 44340

gcgttagttc tttttaagga gatggagagc agtgggtgtta gtccctgatat tattacgtat 44400
aacataattc tgcaagggtt atttcaaacc agaagaactg ctgctgcaaa agaactctat 44460
gtcaggatta ccgaaagtgg aatgcagatt gaactttgtt agattttaatt ggataattaa 44520
tccattttaa tcaattaaat caaataaatt ccaaggctca ttatgctagg aattcatgtg 44580
aattcatctt tctatgggat atcaatggga tgaagagttt tgagaattaa tccatttgat 44640
taaggaattg gtaacttata tcaattaatc ctaattgatg gatggttgat ggttgtgtag 44700
tggaggatgg ttcatggcta gtltgatgaca attagttgct ctattcctct tcctattcca 44760
ttggtaactt acatcaatta ctcttaattg attgttgggt gatggttgtg tagtggagga 44820
tggttcatgg ctagttgatg acaattagtt gctccattcc tcttcctatt ccatgactct 44880
tactcttcat ctccattcc tcttataaaa tgagaatgga ttigtatctc cgcgagaaga 44940
agaagacaca ctctcatcca ttttcaaaag ctgttgcctg tacggtaatc ccatcccgac 45000
gagtgtgtgc acacgcgttg ggagagtagg cctccgaaac cacgcgttgc tgcgacgttt 45060
gcacagacgg gcgggcgatc aggttttttg ggagcgcaag gcgcgactac tcactgttcg 45120
tcaacatcta ctcatcttc accaacaatgt cgaacactgg agacaaggag aaggagactc 45180
ccgtcaacac caacggaggc aatactgcct caaactccag cggaggacca ttcttgggggt 45240
ataaccttat tacattatit caattagaag ttttactgtt aatgttcatc gcaatgtcaa 45300
cattgtgtca ttatgtgatt gtltgatgctt attcaacgtt aagcatgctc atgttgatta 45360
cattcaccac talcactgga tcaaatccta ttgtaaatat catgtttatt atcttgttat 45420
tttggattaa aatatgccga attatgacca aatticcaac aaacttagca cataacaat 45480
aatccitcat ggactttgca aaaacaaact cactgatgat gcacttcgaa tgtttcagaa 45540
cctatgtttg atggatttga agcttgaggc taggacttcc aacattatga ttgatgcatt 45600
gcttaaagtt ggcagaaatg atgaagccaa ggatttgttt gtltgctttct cgtctaacgg 45660
tttagtgccg aattattgga cgtacagatt gatggctgaa aatattatag gacaggggtt 45720
gctagaagaa ttggatcaac tctttctttc aatggaggac aatggctgta ctgttgactc 45780
tggcatgcta aattcatitg ttagggaact gtltgcagaga ggtgagataa ccagggttg 45840
cacttacctt tccatgatit atgagaagca cttttccctc gaagcatcca ctgcttccct 45900
gtttatagat cttttgtctg ggggaaaata tcaagaatat catatatttc tccctgaaaa 45960
atacaagtc tttatagaat ctttgagctg ctgaagcatt ttgcagcttt gaaattctgt 46020
gttggaaatc ttttctccta cagtccgatt agaggaggga tcttctctgt atgtgtaaat 46080

agcgaggat giatgtcacc tctccgaatt attttgactg tggttcctgg actgtaaaca 46140
agctattatc ttctggigtg gatgccagaa aaaacacaaa agtttgtcgt tatctctact 46200
aacggatcat aaaggggttt gtaaciggag ttccaacatt aaggatatcta ggcagtaggt 46260
atataatgat cctacatctt atgatcttaa gatgataatc ttctcattat cctctgctga 46320
aacitttagct tgaaccgtca tctacaccac aatttgagcc ccttagcaca gagcacaacg 46380
agcaatagct tgcccttacg ttcatatttt agcatgcact actactaact acccaataat 46440
caatacatcg gttattaaac tgtttgtaca gtttaataat gtcattttat cacgttaaca 46500
tatgtttcat tcaacaccac accggttttg gcacagttagc aaacttgcaa taacatTTTT 46560
actacttctc cgccccataa tataacaatc tcgttccata ctatattgct atattacggg 46620
acggatgaag tacttcttcc ctcccaaaat ataagaatct agtcctagat tagatattat 46680
ttggattcac gaatttgatt aggctatcta gattttagt cgtatgtaat gtctaattcg 46740
gtaatagggt attacctctt tggatggagg gagtagtttt tatttcgtac tccctctgtt 46800
tcatattata agttgttttg acttttttct tagtcaaatt ttattgagtt tgactaaatt 46860
tatagaaaaa aaattagcaa catttaagca ccacattagt ttcatataat gtagcatgga 46920
atataatttt ataatatgtt tgttttttta ttaaaatgct actataatttt tctataaatg 46980
tagccaaatt taaagaagtt tgattacgaa aaaaaatcaa aatgacatat aatatgaaac 47040
tgaggatgta gcagactata gcaaatttaa actatgcttt tattttagag catcaccaaa 47100
agagatagcc taaatcttat cttaactaat taaaatatcc ataattttcc ttctgtcaca 47160
ttaaattttc gtccgtaaaat ccgattgaaa tccaactaga caatccaaaa aatagagaaa 47220
aagaacagaa aaaataataa aaagcacaca aatcttatct caatccgcg ggaagctgcc 47280
gatgccgccg aatccgctcg agcgccgccg ccgcccgtca cggggaacga tgtcgtgct 47340
atcgcacgtg gtatgggagg gcgcccgcgc cgctgcttgg gagataggat atggagagag 47400
aaggaaatgt gagggagggt taggtttttc cccattcgta tcttcagcga cacggaggcg 47460
atccaagctg tccatcagat cagacggctc agaacgcctc catcttcagg ccgcgcattgc 47520
ttgatgggcc gaggggaaggc cggagggtcg aacaaacgta gtcagaggag gatttgagg 47580
aggtaaagta gaattttatt gcgggctgag atagtaaatt gactgaaaat ggcccataga 47640
gaaattggga atttttattt aataaatgtt gaaaagggtt ttatattatc aaaattagaa 47700
attaagctcc gaaaatttta aaaaatatcc aaagagcatt attaatcatg attaatTTAA 47760
taaaaattaa atccaacat atcatattat ttcacggcgc gcagtaggaa aatgcgcagc 47820

tgttgtcgct tacggtggga gagaaggac attgtttatt ttcagaacta tcttttataa 47880
ctcccatgga actttaaaat aaatataatc attattatag cattagtttt tttctgtctt 47940
ttttttcccc aagagcgccg cgcagaagag atcgatcgcg atctccctgc cccgacgtcg 48000
ccggccgacg tctcattctc tccacgccct gctcgtcgcc gatctcctac accatccctg 48060
ccatctctc ctteccctcc cctctatcct ccactggcgc cgcccacctc tccgtataag 48120
acaaactgcg ttgcggcggt gggttccgcc ggcgctgctg ctgcacctgt cagctagggc 48180
gggcatggcg cgccgcgccc ctteccgcgc tgttggcgcc cttcgctcgg acggctcgat 48240
ccaagggcga ggaggccgcg cggggggcag tggcgccgag gacgcacgcc acgtgttcga 48300
cgaattgctc cggcgtggca ggggcgcctc gatctacggc ttgaaccgcg ccttcgccga 48360
cgtcgcgcgt cacagccccg cggccgcctg gtcccgctac aaccgcatgg cccgagctgg 48420
cgccgacgag gtaactcccg acttgtgcac ctacggcatt ctcatcggtt gctgctgccg 48480
cgcgggccgc ttggacctcg gtltcgcggc ctigggcaat gtcatttaaga agggatttag 48540
agtggaagcc atcaccttca ctctctgct caagggcctc tgtgccgaca agaggacgag 48600
cgacgcaatg gacatagtcg tccgcagaat gaccgagctc ggittgcatac caaatgtctt 48660
ctctacaat aatcttctca acgggctgtg tgatgagaac agaagccaag aagctctcga 48720
gttgtctcac atgatggctg atgatcgagg aggaggtagc ccacctgaig tggtgtcgta 48780
taccactgtc atcaatggct tcttcaaaga gggggattca gacaaagctt acagtacata 48840
ccatgaaatg ctggaccggg ggattttacc tgatgttgtg acctacagct ctattattgc 48900
tgcgttatgc aagggtcaag ctatggacaa gccatggagg tacttaccac gatggittaag 48960
aatgggtgtc tgccatgatt catgacatat aatagttatt tcttgaaatg ttggatcgag 49020
gcatttgtct ggacactatt ttctttaatt caataattga cagtcatgac aaagaaggga 49080
gggttataga atctgaaaaa ctctttgacc tgatggctacg tattgggtgtg aagcctgata 49140
tcattacata cagtacactc atcgatggat attgcttggc aggttaagat gatgaagcaa 49200
tgaagtact ttctggcatg gtctcagttg ggittgaaacc taatactgtt acttatagca 49260
ctttgattaa tggctactgc aaaattagta ggatggaaga cgcgttagtt ctttttaagg 49320
agatggagag cagtggigtg agtcctgata ttattacgta taacataatt ctgcaagggt 49380
tatttcaaac cagaagaact gctgcigcaa aagaactcta tgtcaggatt accgaaagtg 49440
gaacgcagat tgaacttagc acatacaaca taatccttca tggactttgc aaaaacaaac 49500
tactgatga tgcacttcag atgtttcaga acctatgttt gatggatttg aagcttgagg 49560

ctaggacttt caacattatg attgatgcat tgcctaaagt tggcagaaat gatgaagcca 49620
aggatttggt tgttgctttc tcgtctaacg gtttagtgcc gaattattgg acgtacaggt 49680
tgatggctga aaataattata ggacaggggt tgcctagaaga attggatcaa ctttttcttt 49740
caatggagga caatggctgt actgttgact ctggcatgct aaatttcatt gttagggaac 49800
tgttgcagag aggtgagata accagggctg gcacttacct tccatgatt gatgagaagc 49860
acttttcct cgaagcatcc actgcttctt tgtttataga tcttttgtct gggggaaaat 49920
atcaagaata ttatagggtt ctcctgaaa aatacaagtc ctttatagaa tctttgagct 49980
gctgaagcat ttltgcagctt tgaattctg tgttggatt cttttctctt acagtcctat 50040
tagaggaggg atcttctctg tatgtglaaa tagcgaggta tgtatgccac ctctccgaat 50100
tatttttact gtggttccta gactgtaaac aagcaattat gttatgctgt tgatgccaga 50160
aaaaacataa aagtttgtcg ttatctctac taacggatca taaagggatt tgtgactgga 50220
gtttcaaact taatgtgtct aggcagtaat ttltgacatta gatccaaaac aatttatagg 50280
gtttcattaa atttcatcta tgtgtactgt ttaggtgttg aatagtttga cttgtttttt 50340
aactgaacaa aagataatgc tgaagctttg tcttttacca aatgcagtac tgatcatcac 50400
aatatatatt ttatggaaca agattggatt gtatagaatg gtttccgac tgattatctt 50460
atctcaacgt attattatgc acatgtacta atcatgaaat atctgatgga atgatgtttc 50520
tattttacct tgtgaggcag caaggagtga gatggataac accacatact cctctatcc 50580
cagaatataa gaagttttag agttggacac gattattaag aaagtaggta gaagttagta 50640
gtggagggtt gtgattgcat gagtagtgga ggtagggtgg aaaagtgaat ggtggagggt 50700
tgtgattggt tgggaagaga atgttggtag agaagtgtt atattttggg gagtacatta 50760
ttattctaga acaatactgt tgtgtctcaag aagcgttcca aagatgtttc acaacctgtg 50820
ctcgatgggt ttltgagctta atcttggac attcagatc atgatctgtc tcatctttaa 50880
acatggaata aaggaatgaca gcatgatttc ttltgtctta taatcttttg gctaccaca 50940
gataatagct gtaaactctat actactttta aaggagtagt ggtgggtggtg agtgggtgaat 51000
ctgccaccac cccaccacca actctcaaaa ttctgacatg tgggatcact gtcaatccct 51060
tctccaagac atgtgggac actgtcaatc cttcttccaa accaattgta tgatagaaca 51120
gtggaaatca cggacagacc atggagctct caaccataat catccttgcg agttaataac 51180
aaatggagcg taaacttggc aagcaaaaaa ctcaaattaa ttctaaaatt aagctctagg 51240
attcaaaaata gatttccctt ctgcattgtg ctgttatgat ttttaattcc gtaacaacgc 51300

aaatgcattt igctagtcct ataaagaagg gttaatgcaa atattctgat taaatgattg 51360
tatctatgaa gtttgaatgc tagtgggaagc tcctttgacc atgttttggt gtgcgagcat 51420
ttaagagagt gaagagaatg cticcttgggt gctgttctgg taiggaagga tccacagata 51480
aaattcaggt tctactgctt ctctgcttgt aattttcatg aagctgcagt gaataccttg 51540
ttgaccactt gatctgttgc tttgaaggag aatatagtag tggccaaggt tggtagcgg 51600
gatgggtggca tgtgatcccc cagatcttca gtgaccaga gaggagggga cggcgcgtgg 51660
tgagctacaa ggcatactca gtggagggca agatcaaggc ctcccgtccg taggggactc 51720
cgctgcatca aggccaactg ctccgaactg atcaatttct ggtacggatc acttctcctt 51780
tccttttttt ttccacctta agcacctctt tgattcttcg ctgctacctc ccttaatttc 51840
tttcaatata ttgtggcact tgatcatggc ggagaccac ctccagtgt gaatggattt 51900
tgtcaaagaa cttaaatttat tccattagct tatttctga ttacatggaa gacattcttt 51960
tctggaataa atacagaact aaatccgtgt tcctgaataa aagttgttag tgtgtggcat 52020
ggtgcatttc cgcgccttca aattttataa aaccgttca ttcaattiga acctgcatcc 52080
aatccaatat tttagggtgca gacagggtgt tgcggtcagg ttaaagaagt tggcaaaaat 52140
gcttctgaag aaagggttaat tgttgtttca tctcaggagg taatatgcag atgattattc 52200
caattggcat tgccttgcca tttttatcac gagtctttac aattttatat cctcctacat 52260
attctttcca gattccagat gatccagtgt ctccaacaat tgaggcgctt attttgctcc 52320
atagtaaagc aagtacactt gctgagaacc accagttgac aacacggctt gttgtacat 52380
caaacaaagt tggttgtatt ctgggggaag gtggaaaggt aattactgaa atgagaagac 52440
ggactggggc tgaaatccga gtctactcaa aagcagataa acctaaaglac ctgtcttttg 52500
atgaggagct tgtgcaggta atttatattg ccataacctac accagagatc catataattac 52560
ttttataact gcagttttta ctgtttaaca tttcatgtg cttttacatt tgttccaagc 52620
tttcaggttg ctgggccttc agctatigaa agaggagccc tgacagagat tgcttcgagg 52680
ctttgaacta ggacactcag agatggaagt tcttccaata atccgacacc ttttgccctt 52740
gttgatggtc ctctgttga tatcttgctt aacaaggaat tcatgctata tggacgatct 52800
gctaatagtc ccccataatg agggcctgtt aatgatccac catatggaag acctgccatt 52860
gatccacat atggaagacc aataccaca atatggaaga cctgccaatg atccaccata 52920
tagaagacct gtcaatgata catcataatg agggttggac aatgatgggc ctctgatca 52980
ggccccgttc tgaggggggt cgaatggggc gatcgtccg ggccccgat tcccagggcc 53040

```

cccacctatc tgtgcaacga gtagtagcga tcttccagcg cgcaacgtga ggcgatgttt 53100
ctccgtgatt tcgccggcct gcaactgcga gatcgcgagt ataacgatca gccgatcgat 53160
ctcatctgcc gactgccatg ctgatgccac acgcaagcgc agcatatcag ccttatcttg 53220
gttgatcggc atgctggacg agcacatctg ttgtcgcac aactgctgac tgctatata 53280
gtgctggatg tgaatcgatc gatgtcgtc gcggaagtga agaacaacca cggcactgct 53340
gcctgctggg ctctagccgc catcagtaag tacgctatac tgcctatcta gatctagatc 53400
gagattacat agtggaatta tctgtttata aaaaaattac aaggatcaa ttgataattt 53460
aaggttataa ccgtacaaac ttcagtgatt tgctggtttc acattggtta gatttgtttc 53520
aactaatttg gtacttctgt agccttgtaa ttacgaatc tagtattaat attttcttaa 53580
gtattagcct gttccttgat attatgctgt tgagaaagta tgcaatagat aacaaaaaca 53640
agtaggtgtg ttgaggatgc tcaagagtaa tacagccact tcaataattc tgatattatc 53700
aggacatcat caataattct gcgcctacaa atcttcaaag aaaattttaa tataatgcgt 53760
atgatttttt aaatacgaat attgattgct atttaaagat atttatatta tatggtaatt 53820
attatttgaa ggttttataat aaaggcctcc gtttttagtt tcacgctggg ccttcagaat 53880
ctcaggaccg gccctgctca tgatec                                     53905

```

<210> 29

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 29

atcaggagcc ttcaaattgg gaac 24

<210> 30

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 30

ctcgcaaatt gcttaat ttt gacc 24

<210> 31

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 31

tgaaggagtt atgggtgcgt gacg 24

<210> 32

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 32

ttgccgagca cacttgccat gtgc 24

<210> 33

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 33

gcgacgcaat ggacatagtg ctcc 24

<210> 34

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 34

ttacctgcca agcaatatcc atcg 24

<210> 35

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 35

aaggcatact cagtggaggg caag 24

<210> 36

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 36

ttaacctgac cgcaagcacc tgtc 24

<210> 37
<211> 24
<212> DNA
<213> artificial sequence
<220>
<223> Oligonucleotide primer for amplification
<400> 37
tggatggact atgtggggtc agtc 24

<210> 38
<211> 24
<212> DNA
<213> artificial sequence
<220>
<223> Oligonucleotide primer for amplification
<400> 38
agtgggaagtg gagagagtag ggag 24

<210> 39
<211> 24
<212> DNA
<213> artificial sequence
<220>
<223> Oligonucleotide primer for amplification
<400> 39
ccctccaaca cataaatggt tgag 24

<210> 40

<211> 24
<212> DNA
<213> artificial sequence
<220>
<223> Oligonucleotide primer for amplification
<400> 40
tttctgccag gaaactgtta gatg 24

<210> 41
<211> 24
<212> DNA
<213> artificial sequence
<220>
<223> Oligonucleotide primer for amplification
<400> 41
gcgatcttat acgcatacta tgcg 24

<210> 42
<211> 24
<212> DNA
<213> artificial sequence
<220>
<223> Oligonucleotide primer for amplification
<400> 42
aaagtctttg ttcccttcacc aagg 24

<210> 43
<211> 26
<212> DNA

<213> artificial sequence
<220>
<223> Oligonucleotide primer for amplification
<400> 43
gaggatttat caaaacagga tggacg 26

<210> 44
<211> 24
<212> DNA
<213> artificial sequence
<220>
<223> Oligonucleotide primer for amplification
<400> 44
tgggcggcag cagtggagga taga 24

<210> 45
<211> 24
<212> DNA
<213> artificial sequence
<220>
<223> Oligonucleotide primer for amplification
<400> 45
aagaaggag ggttatagaa tctg 24

<210> 46
<211> 24
<212> DNA
<213> artificial sequence
<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 46

atatcaggac taacaccact gctc 24

<210> 47

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 47

acgagtagta gcgatcttcc agcg 24

<210> 48

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 48

cagcgtgaaa ctaaaaacgg aggc 24

<210> 49

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 49

atccacatc atcataatcc gacc 24

<210> 50

<211> 25

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 50

agcttctccc ttggatacgg tggcg 25

<210> 51

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 51

atttgttggg tagttgcggc tgag 24

<210> 52

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 52

gcccaaactc aaaaggagag aacc 24

<210> 53
<211> 24
<212> DNA
<213> artificial sequence
<220>
<223> Oligonucleotide primer for amplification
<400> 53
cctcaagtct cccctaaagc cact 24

<210> 54
<211> 24
<212> DNA
<213> artificial sequence
<220>
<223> Oligonucleotide primer for amplification
<400> 54
gctctactgc tgataaaccg tgag 24

<210> 55
<211> 24
<212> DNA
<213> artificial sequence
<220>
<223> Oligonucleotide primer for amplification
<400> 55
tggatggact atgtggggc agtc 24

<210> 56
<211> 24

<212> DNA
<213> artificial sequence
<220>
<223> Oligonucleotide primer for amplification
<400> 56
agtggaagtg gagagagtag ggag 24

<210> 57
<211> 24
<212> DNA
<213> artificial sequence
<220>
<223> Oligonucleotide primer for amplification
<400> 57
tacgacgcca ttctactcca ttgc 24

<210> 58
<211> 24
<212> DNA
<213> artificial sequence
<220>
<223> Oligonucleotide primer for amplification
<400> 58
catttctcta tgggcgttgc tctg 24

<210> 59
<211> 26
<212> DNA
<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 59

acctgtagggt atggcacctt caacac 26

<210> 60

<211> 26

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 60

ccaaggaacg aagttcaaat gtatgg 26

<210> 61

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 61

tgatgtgttt gggcatccct ttcg 24

<210> 62

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 62

gagatagggg acgacagaca cgac 24

<210> 63

<211> 26

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 63

tcctatggct gtttagaaac tgcaca 26

<210> 64

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 64

caagttcaaa cataactggc gttg 24

<210> 65

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 65

cactgtcctg taagtgtgct gtgc 24

<210> 66
<211> 24
<212> DNA
<213> artificial sequence
<220>
<223> Oligonucleotide primer for amplification
<400> 66
caagcgtgtg ataaaaatgtg acgc 24

<210> 67
<211> 24
<212> DNA
<213> artificial sequence
<220>
<223> Oligonucleotide primer for amplification
<400> 67
tgcctactgc cattactatg tgac 24

<210> 68
<211> 24
<212> DNA
<213> artificial sequence
<220>
<223> Oligonucleotide primer for amplification
<400> 68
acatactacc gtaaaatggtc tctg 24

<210> 69

<211> 4820

<212> DNA

<213> rice

<400> 69

atcgatcgcg atctccctgc cccgacgtcg cgggccgacg tctcattctc tccacgccct 60
gctcgtcgcc gatctcctac accatccctg ccattctctc cttcccttcc cctctatcct 120
ccactgggtgc cgcccacctc tccglataag acaaactgcg ttgcggcggt gggtttccgcc 180
ggcgctgctg ctgcacctgt cagctagggc gggcatggcg cgccgcgcgc cttcccgcg 240
tgttggcgcc cttcgctcgg acggctcgat ccaaggcgga ggaggccgcg cggggggcag 300
tggcgccgag gacgcacgcc acgtgttcga cgaattgctc cgccgtggca ggggcgcctc 360
gatctacggc ttgaaccgcg ccttcgccga cgtcgcgcgt gacagccccg cggccgcctg 420
gtcccgctac aaccgcatgg cccgagccgg cgccgacgag gtaactcccg acttgtgcac 480
ctacggcatt ctcatcggtt gctgctgccg cgcgggcccgc ttggacctcg gtttcgcggc 540
cttgggcaat gtcattaaga agggatttag agtggacgcc atgccttca ctcctctgct 600
caagggcctc tgtgccgaca agaggacgag cgacgcaatg gacatagtgc tccgcagaat 660
gaccgagctc ggctgcatac caaatgtctt ctcctacaat attcttctca aggggctgtg 720
tgatgagaac agaagccaag aagctctcga gctgctgcac atgatggctg atgatcgagg 780
aggaggtagc ccacctgatg tgggtgtcgt taccactgtc atcaatggct tcttcaaaga 840
gggggattca gacaaagctt acagtacata ccatgaaatg ctggaccggg ggattttacc 900
tgatgttgtg acctacaact ctattattgc tgcgttatgc aaggctcaag ctatggacaa 960
agccatggag gtacttaaca ccatgggtta gaatgggtgc atgcctgatt gcatgacata 1020
taatagtatt ctgcatggat attgctcttc agggcagccg aaagaggcta ttggatttct 1080
caaaaagatg cgcagtgatg gtgtcgaacc agatgttgtt acttatagct tgcctatgga 1140
ttatctttgc aagaacggaa gatgcatgga agctagaaag attttcgatt ctatgaccaa 1200
gaggggccta aagccigaaa ttactaccta tgggtaccctg cttcaggggt atgctaccaa 1260
aggagccctt gttgagatgc atggctctct ggatttgatg gtacgaaacg gtatccaccc 1320
tgatcattat gttttcagca ttctaatatg tgcatacgct aaacaaggga aagtagatca 1380
ggcaatgctt gtgttcagca aaatgaggca gcaaggattg aatccgaatg cagtgcgta 1440

tgagcagatt ataggcatac ttigcaagtc aggcagagta gaagatgcta tgctttatatt 1500
tgagcagatg atcgatgaag gactaagccc tggcaacatt gtttataact ccctaattca 1560
tggtttgtgc acctgtaaca aatgggagag ggctgaagag ttaattcttg aaatgttgga 1620
tcgaggcatc tgtctgaaca ctatittctt taattcaata attgacagtc atigcaaaga 1680
agggagggtt atagaatctg aaaaactctt tgagctgtag gtacgtattg gtgtgaagcc 1740
caatgtcatt acctacaata ctcttatcaa tggatattgc ttggcaggta agatggatga 1800
agcaatgaag ttactttctg gcatggcttc agttgggttg aaaccttaata ctgttactta 1860
tagcactttg attaatggct actgcaaaat tagtaggatg gaagacgcgt tagttctttt 1920
taaggagatg gagagcagtg gtgttagtcc tgatattatt acgtataaca taattctgca 1980
aggtttatatt caaaccagaa gaactgctgc tgcaaaagaa ctctatgtta ggattaccga 2040
aagtggaaac cagattgaac ttagcacata caacataatc ctcatggac ttgcaaaaa 2100
caaaactcact gatgatgcac ttcagatgtt tcagaacctt tgtttgatgg attigaagct 2160
tgaggctagg actttcaaca ttatgattga tgcattgctt aaagttagga gaaaatga 2220
agccaaggat ttgtttgttg ctttctcgtc taacggttta gtgccgaatt atiggacgta 2280
caggttgatg gctgaaaata ttataggaca ggggttgcta gaagaattgg atcaactctt 2340
tctttcaatg gaggacaatg gctgtactgt tgactctggc atgctaaatt tcatlgttag 2400
ggaactgttg cagagagggt agataaccag ggctggcact tacccttcca tgattgatga 2460
gaagcacitt tccctcgaag catccactgc ttccttgttt atagatcttt tgtctggggg 2520
aaaatatcaa gaatattata ggtttctccc tgaaaaatac aagtccttta tagaatcttt 2580
gagctgctga agcattttgc agctttgaaa ttctgtgttg gaattctttt ctctacagt 2640
cctattagag gagggatctt ctctgtatgt gttaaatacg agtttgaaat ctagtggaag 2700
ctcctttgac catgttttgt tgtgcgagca ttttaagagag tgaagagaat gcttcttttg 2760
tgcgttctg gtatggaagg atccacagat aaaattcagt agtggccaag gttagtgacg 2820
gtgatggtag catgtgatcc cccagatctt cagtgacca gagaggaggg gacggcgcgt 2880
ggtgagctac aaggcatact cagtggaggg caagatcaag gcctcccgtc ctagggggac 2940
tccgctgcat caaggccaac tgcctcgaac tgatcaattt ctgggtcaga caggtgcttg 3000
cggtcagggt aaagaagttg gcaaaaaatgc ttctgaagaa aggttaattg ttgtttcatc 3060
tcaggagatt ccagatgatc cagtgtctcc aacaattgag gcgcttattt tgctccatag 3120
taaagtaagt acacttgctg agaaccacca gttgacaaca cggcttgttg taccatcaaa 3180

```

caaagttagt tgtattcttg gggaaggtag aaaggtaatt actgaaatga gaagacggac 3240
tggggctgaa atccgagict acicaaaagc agataaacct aagtaacctgt cttttgatga 3300
ggagcttggt caggttgctg ggcttccagc tattgaaaga ggagccctga cagagattgc 3360
ttcgaggcct tgaactagga cactcagaga tggaagtict tccaataatc cgacaccttt 3420
tgcccttggt gatggctctc ctgttgatat ctigccctaac aaggaattca tgctatatgg 3480
acgatctgct aatagtcctc catatggagg gcctgctaata gatccaccat atggaagacc 3540
tgccattgat ccaccataat gaagaccaat atccacaata tggaagacct gccaatgac 3600
caccataatg aagacctgtc aatgatacat cataatgagg gttgaacaat gatgggcctc 3660
gtgatcaggc cgggtcctga gggggggtcga atggggcgat cgtccgggc ccccgattc 3720
ccagggtccc caccatctg tgcaacgagt agtagcgatc ttccagcgcg caacgtgagg 3780
cgatgtttct ccgtgatttc gccggcctgc aactgcgaga tcgagagtat aacgatcagc 3840
cgatcgatct catctgccga ctgccatgct gatgccacac gcaagcgag catatcagcc 3900
ttatcttggg tgatcggcat gctggacgag cacatctgtt gtgcacaa ctgctgactg 3960
ctatataatg gctgggtgct aatcgatcga ttgtcgtcac ggaagtgaag aacaaccacg 4020
gcactgctgc ctgctgggct ctagccgcca tcagctgcgg agctgatcca tggacgtgag 4080
gattaccgaa gactgtcagg tctcactggg tatccagggt gcctgtcga attgtggatt 4140
ccaaatagtt aactggagtc tgtcatggg gttaggtgggt tcaatctagc tgagatccgt 4200
ctggtatagc gtaagagaaa catcatgcac tatccccagt cataaccatg ccccaatggc 4260
caccaatagt ttctctctg aaaatctccc ctgatccca gatctctggt gcgagagtga 4320
agttgcacga agcccatcct ggttcttccg agtccattgt ggagatccag ggcatctcgg 4380
atcaagtgaag agccgcacag agccttctgc aaggcttcat cggcgcaagc agcaacagca 4440
ggcaggcgcc ccagtcctct cgcatggccc attattttta gtaagctgga ggacattcgc 4500
aacagggggg tcagtgggtc ctgcaaagct gagtttgttc ttcagttcaa ctgcagaaaa 4560
ttgcagatcg gttgccgtag ttgctagaac ggtacatagt tgccacctaa ctgtagcgag 4620
tggcataact tattgttgtt tactgccccaa tgttgtctct ccttgtgttc atggattcag 4680
acttgtgatt gtagtatctt tggatcagac tggagtaaaa gaaaaaaaaa aaggaagaca 4740
tgggtttaac agtaagctca aaacgttgac agtagtaaaa taaaaggggt ttgttactt 4800
taaaaaaaaa aaaaaaaaaa

```

4820

<210> 70

<211> 4821

<212> DNA

<213> rice

<400> 70

cgatcgcat ctccctgccc cgacgtcgcc ggccgatctc tcattctctc cagccctgc 60
 tcgtcgccga tctcctacac cctccctgcc atctcctcct tcccctcccc tctatcctcc 120
 actgggtgccg cccacctctc cgtataagac aaactgctgt gcggcggttg tticcgcggg 180
 cgctgctgct gcacctgtca gctagggcg gcatggcgcg ccgcgcgcgt tcccgcgctg 240
 ttggcgccct tcgtcggac ggctcgatcc aaggcgagg aggcgcgcg gggggcagtg 300
 gcgccgagga cgcacgccac gtgttcgacg aattgctccg ccgtggcagg ggcgctcga 360
 tctacggctt gaaccgcgcc ctgcgcgacg tcgcgcgtga cagccccgcg gccgccgtgt 420
 cccgctacaa ccgcatggcc cgagccggcg ccgacgaggt aactcccgac ttgtgcacct 480
 acggcattct catcggttgc tgcctccgcg cgggccgctt ggacctcggt ttgcggcct 540
 tgggcaatgt cattaagaag ggatttagag tggacgcat cgccttact cctctgctca 600
 agggcctctg tgccgacaag aggacgagcg acgcaatgga catagtgtc cgcagaatga 660
 ccgagctcgg ctgcatacca aatgtcttct cctacaatat tcttctcaag gggctgtgtg 720
 atgagaacag aagccaagaa gctctcgagc tgcctgacat gatggctgat gatcgaggag 780
 gaggtagccc acctgatgtg gtgtcgtata ccactgtcat caatggcttc ttcaaagagg 840
 gggattcaga caaagcttac agtacatacc atgaaatgct ggaccggggg attttacctg 900
 atgttgtgac ctacaactct attattgttg cgttatgcaa ggctcaagct atggacaaag 960
 ccatggaggt acttaacacc atgggttaaga atgggtgcat gccgtattgc atgacatata 1020
 atagtattct gcatggatat tgcctctcag ggcagccgaa agaggctatt ggatttctca 1080
 aaaagatgcg cagtgatggt gtcgaaccag atgttgttac ttatagcttg ctcatggatt 1140
 atctttgcaa gaacggaaga tgcattggaag ctagaaagat ttctgattct atgaccaaga 1200
 ggggcctaaa gcctgaaatt actacctatg gtacctgtct tcaggggtat gctaccaaag 1260
 gagcccttgt tgagatgcat ggtctcttgg atttgatggt acgaaacggt atccaccttg 1320
 atcattatgt ttccagcatt ctaatatgtg catacgctaa acaagggaaa gtagatcagg 1380
 caatgcttgt gttcagcaaa atgaggcagc aaggattgaa tccgaatgca gtgacgtatg 1440

gagcagttat aggcatactt tgcaagtcag gcagagtaga agatgctatg ctttattttg 1500
agcagatgat cgatgaagga ctaagccctg gcaacattgt ttataactcc ctaattcatg 1560
gtttgtgcac ctgtaacaaa tgggagaggg ctgaagagtt aattcttgaa atgttggatc 1620
gaggcatctg tctgaacact attticttta attcaataat tgacagtcat tgcaaagaag 1680
ggagggttat agaatctgaa aaactctttg agctgatggt acgtattggt gtgaagccca 1740
atgtcattac ctacaatact cttatcaatg gatattgctt ggcaggtaag atggatgaag 1800
caatgaagtt actttctggc atggtctcag ttgggttgaa acctaatctt gttacttata 1860
gcactttgat taatggctac tgcaaaaatta gtaggatgga agacgcgtta gticttttta 1920
aggagatgga gagcagtggt gttagtcctg atattattac gtataacata attctgcaag 1980
gtttatttca aaccagaaga actgcctgctg caaaagaact ctatgttagg attaccgaaa 2040
gtggaacgca gattgaactt agcacataca acataatcct tcatggactt tgcaaaaaca 2100
aactcaciga tgatgcactt cagatgittc agaacctatg ttgatggat ttgaagcttg 2160
aggctaggac ttccaacatt atgattgatg cattgcttaa agttggcaga aatgatgaag 2220
ccaaggattt gtttgttgct ttctcgtcta acggtttagt gccgaattat tggacgtaca 2280
ggttgatggc tgaaaatatt ataggacagg ggttgctaga agaattggat caactcttct 2340
tttcaatgga ggacaatggc tgtactgttg actctggcat gctaaatttc attgttaggg 2400
aactgttgca gagaggtagg ataaccaggg ctggcaccta cctttccatg attgatgaga 2460
agcacttttc cctcgaagca tccactgctt ccttgtttat agatcttttg tctgggggaa 2520
aataatcaaga atattatagg ttctctccctg aaaaatacaa gtccctttata gaatctttga 2580
gctgctgaag cattttgcag ctttgaaatt ctgtgttgga attcttttct cctacagtcc 2640
tattagagga gggatcttct ctgtatgtgt aaatagcgag ttigaatgct agtggaaact 2700
cctttgacca tgttttgttg tgcgagcatt taagagagtg aagagaatgc ttctttgggtg 2760
ctgttctggt atggaaggat ccacagataa aattcagtag tggccaaggt tggtgacggt 2820
gatgggtggca tgtgatcccc cagatcttca gtgaccaga gaggagggga cggcgcgtgg 2880
tgagctacaa ggcatactca gtggagggca agatcaaggc ctcccgtccg taggggactc 2940
cgctgcatca aggccaactg ctccgaactg atcaatttct ggtgcagaca ggtgcctgcg 3000
gtcaggttaa agaagtggc aaaaatgctt ctgaagaaag gttaatgtt gtttcatctc 3060
aggagattcc agatgatcca gtgtctccaa caattgaggc gcttattttg ctccatagta 3120
aagtaagtac acttgctgag aaccaccagt tgacaacacg gcttgttgta ccatcaaaca 3180

```

aagttggttg tattcttggg gaaggtagaa aggttaattac tgaaatgaga agacggactg 3240
gggctgaaat ccgagctctac tcaaaagcag ataaacctaa gtacctgtct tttgatgagg 3300
agcttgtgca ggttgcctggg ctccagcta ttgaaagagg agccctgaca gagattgctt 3360
cgaggctttg aactaggaca ctacagagatg gaagticttc caataatccg acaccttttg 3420
ccccgttga tggctctcct gttgatatct tgcctaacaa ggaattcatg ctatatggac 3480
gatctgctaa tagtccccca tatggagggc ctgctaata tccaccatat ggaagacctg 3540
ccattgatcc accatatgga agaccaatat ccacaatatg gaagacctgc caatgatcca 3600
ccatatagaa gacctgtcaa tgatacatca tattgagggt tgaacaatga tgggcctcgt 3660
gatcaggccc ggtccctgagg ggggtcgaat ggggcgatcg ctccgggccc cccgattccc 3720
agggccccca cctatctgtg caacgagtag tagcgatctt ccagcgcgca acgtgaggcg 3780
atgtttctcc gtgatttcgc cgccctgcaa ctgcgagatc gcgagtataa cgatcagccg 3840
atcgatctca tctgccgact gccatgctga tgccacacgc aagcgcagca tatcagcctt 3900
atcttgggtg atcggcctgc tggacgagca catctgttgt cgcattcaact gctgactgct 3960
atatatgtgc tgggtgctgaa tcgatcgatt gtcgtcacgg aagtgaagaa caaccacggc 4020
actgctgcct gctgggcctc agccgccatc agctgcggag ctgatccatg gacgtgagga 4080
ttaccgaaga ctgtcaggic tcactgggta tccaggtagc tctgtcgaat tgtggattcc 4140
aaatagttaa ctggagctcg tcattgggtg tggtaggtgc aatctagctg agatccgtct 4200
ggtatagcgt aagagaaaca tcatgcacta tccccagtca taaccatgcc ccaatggcca 4260
ccaatagttt tctctgtgaa aatctcccc tgateccaga tctctggtgc gagagtgaag 4320
ttgcacgaag cccatcctgg ttcttccgag tccattgttg agatccaggg cattccgat 4380
caagtgaag ccgcacagag cttctgcaa ggcttcacg gcgcaagcag caacagcagg 4440
caggcgcccc agtctctctg catggcccat tatttttagt aagctggagg acattcgcaa 4500
caggggggtc agtggctact gcaaagctga gttgttctt cagtccaact gcagaaaatt 4560
gcagatcggt tgccgtagtt gctagaacgg tacatagttg ccacctaaact gtagcgagtg 4620
gcataactta ttgtgtgta ctgcccaatg ttgtctctcc ttgtgttcat ggattcagac 4680
ttgtgattgt agtatttctg gatcagactg gagtaaaaga aaaaaaaaaa ggaagacatg 4740
ggtttaacag taagctcaaa acgttgacag tagtaaaata aaaggggttt gttcacttta 4800
aaaaaaaaa aaaaaaaaaa a

```

4821

<210> 71

<211> 5005

<212> DNA

<213> rice

<400> 71

gagatcgatc gcgatctccc tgccccgacg tgcgcggccg atctctcatt ctctccacgc 60
cctgctcgtc gccgatctcc tacaccatcc ctgccatctc ctccctcccc tcccctctat 120
cctccactgg tgccgcccac ctctccglat aagacaaact gcgttgcggc gttggttttcc 180
gccggcgctg ctgctgcacc tgtcagctag ggcgggcatg gcgcgccgcg ccgcttcccg 240
cgctgttggc gcccttcgct cggacggctc gatccaaggc cgaggaggcc gcgcgggggg 300
cagtggcgcc gaggacgcac gccacgltt cgacgaattg ctccgccgtg gcagggggcg 360
ctcgatctac ggcttgaacc gcgcccctgc cgacgtcgcg cgtgacagcc ccgcggccgc 420
cgtgtcccg cacaaccgca tggcccgagc cggcgccgac gaggtaactc ccgacttgtg 480
cacctacggc attctcatcg gttgctgctg ccgcgcgggc cgcttggacc tcggtttcgc 540
ggccttgggc aatgtcatta agaagggatt tagagtggac gccatcgcc tcaactcctct 600
gctcaagggc ctctgtgccg acaagaggac gagcgacgca atggacatag tgcctccgcag 660
aatgaccgag ctccggtgca taccaaatgt cttctcctac aatattcttc tcaaggggct 720
gtgtgatgag aacagaagcc aagaagctct cgagctgctg cacatgatgg ctgatgatcg 780
aggaggaggt agcccacctg atgtgggtgc gtataccact gtcattcaatg gcttcttcaa 840
agagggggat tcagacaaag cttacaglac ataccatgaa atgctggacc gggggatttt 900
acctgatgtt gtgacctaca actctattat tgcctgcgtt tgcaaggctc aagctatgga 960
caaagccatg gaggtactta acaccatggt taagaatggt gtcattgctg attgcatgac 1020
atataatagt attctgcatg gatattgctc ttcagggcag ccgaaagagg ctattggatt 1080
tctcaaaaag atgcgcagtg atggtgtcga accagatgtt gttacttata gcttgctcat 1140
ggattatctt tgcaagaacg gaagatgcat ggaagctaga aagattttcg attctatgac 1200
caagaggggc ctaaagccgt aaattactac ctatggtacc ctgcttcagg ggtatgctac 1260
caaaggagcc ctgtttgaga tgcattggtct cttggatttg atggtacgaa acggtatcca 1320
ccctgatcat tatgttttca gcattctaat atgtgcatac gctaaacaag ggaaagtaga 1380
tcaggcaatg cttgtgttca gcaaaatgag gcagcaagga ttgaatccga atgcagtgcac 1440

gtatggagca gttataggca tactttgcaa gtcaggcaga gtagaagatg ctatgccttta 1500
ttttgagcag atgatcgatg aaggactaag cccctggcaac attgtttata actccctaata 1560
tcatggtttg tgcacctgta acaaatggga gagggctgaa gagttaattc ttgaaatgtt 1620
ggatcgaggc atctgtctga acactatttt ctttaattca ataattgaca gtcattgcaa 1680
agaagggagg gttatagaat ctgaaaaact ctttgagctg atgggtacgta ttgggtgtgaa 1740
gccccaatgtc attacctaca atactcttat caatggatat tgccttggcag glaagaatgga 1800
tgaagcaatg aagttacttt ctggcatggt ctcagttggg ttgaaaccta atactgtttac 1860
ttatagcact ttgattaatg gctactgcaa aattagtagg atggaagacg cgtagtttct 1920
ttttaaggag atggagagca gtgggtgttag tcctgataat attacgtata acataattct 1980
gcaaggttta tticaaacca gaagaactgc tgcctgcaaaa gaactctatg ttaggatttac 2040
cgaaagtgga acgcagattg aacttagcac atacaacata atccctcatg gactttgcaa 2100
aaacaaactc actgatgatg cacttcagat gtttcagaac ctatgtttga tggatttgaa 2160
gcttgaggct aggactttca acattatgat tgatgcattg cttaaagtig gcagaaatga 2220
tgaagccaag gatttgtttg ttgccttctc gtctaacggt ttagtgccga attattggac 2280
gtacaggttg atggctgaaa atattatagg acaggggttg ctagaagaat tggatcaact 2340
ctttctttca atggaggaca atggctgtac tgttgactct ggcatgctaa atttcattgt 2400
tagggaactg ttgcagagag gtgagataac cagggctggc acttaccttt ccatgattga 2460
tgagaagcac ttttccctcg aagcatccac tgccttcttg tttatagatc ttttgtctgg 2520
gggaaaatat caagaatatt ataggtttct ccttgaaaaa tacaagtcct ttatagaatc 2580
tttgagctgc tgaagcattt tgcagcttg aaattctgtg ttggaattct tttctcctac 2640
agtcctatta gaggaggat cttctctgta tgtgtaaata gcgagtttga atgctagtgg 2700
aagctccctt gaccatgttt tgttgtgcga gcatltaaga gagtgaagag aatgcttctt 2760
tggtgctgtt ctggatgga aggatccaca gataaaaattc aggagaatat agtagtggcc 2820
aaggttgggtg acggtgatgg tggcatgtga tccccagat cttcagtgac ccagagagga 2880
ggggacggcg cgtggtgagc tacaaggcat actcagtgga gggcaagatc aaggcctccc 2940
gtccglaggg gactccgctg catcaaggcc aactgctccg aactgatcaa tttctggtgc 3000
agacagggtc ttgcggtcag gttaaagaag ttggcaaaaa tgcctctgaa gaaaggttaa 3060
ttgttgtttc atctcaggag atccagatg atccagtgtc tccaacaatt gaggcgctta 3120
ttttgctcca tagtaaagta agtacacttg ctgagaacca ccagttgaca acacggcttg 3180

ttgtaccatc aaacaaagtt ggttgtattc ttggggaagg tggaaaggta attactgaaa 3240
tgagaagacg gactggggct gaaatccgag tctactcaaa agcagataaa cctaagtacc 3300
tgtcttttga tgaggagcct gtgcaggctg ctgggcctcc agctattgaa agaggagccc 3360
tgacagagat tgcttcgagg ctttgaacta ggacactcag agatggaagt tcttccaata 3420
atccgacacc ttttgcacct gttgatggtc ctctgttga tatcttgcct aacaaggaat 3480
tcatgctata tggacgatct gctaatagtc ccccatatgg agggcctgct aatgatccac 3540
cataatggaag acctgccatt gatccacat atggaagacc aatatccaca atatggaaga 3600
cctgccaatg atccaccata tagaagacct gtcaatgata catcatattg agggttgaac 3660
aatgatgggc ctctgatca ggcccggtcc tgaggggggt cgaatggggc gatcgctccg 3720
ggccccccga tccccagggc cccacctat ctgtgcaacg agtagtagcg atcttccagc 3780
gcgcaacgtg aggcgatgtt tctccgtgat ttgccggcc tgcaactgcg agatcgcgag 3840
tataacgatc agccgatcga tctcatctgc cgactgccat gctgatgcca cacgcaagcg 3900
cagcataatc gccttatctt ggttgatcgg catgctggac gagcacatct gttgtcgcat 3960
caactgctga ctgctatata tgtgctggtg ctgaatcgat cgattgtcgt cacggaagtg 4020
aagaacaacc acggcactgc tgccctgctgg gctctagccg ccatcagctg cggagctgat 4080
ccatggacgt gaggattacc gaagactgtc aggtctcact gggtatccag gtggctctgt 4140
cgaattgtgg attccaaata gtttaactgga gtctgtcatt ggtgttgggt gtgtcaatct 4200
agctgagatc cgtctgggtat agcgttaagag aaacatcatg cactatcccc agtcataacc 4260
atgccccaat ggccaccaat agttttctc gtgaaaatct ccccttgatc ccagatctct 4320
ggtgcgagag tgaagttgca cgaagcccat cctgggtctt ccgagtcct tgtggagatc 4380
cagggcattc cggatcaagt gaaagccgca cagagccttc tgcaaggctt catcggcgca 4440
agcagcaaca gcaggcaggc gccccagtc tctcgcatgg cccattatit ttagtaagct 4500
ggaggacatt cgcaacaggg gggtcagtgg tcaactgcaa gctgagtttg ttcttcagtt 4560
caactgcaga aaattgcaga tcggttgccg tagttgctag aacggtacat agttgccacc 4620
taactgtagc gagtggcata acttatttgt tgttactgcc caatgttgtc tctccttgtg 4680
ttcatggatt cagacttgtg attgtagtat ttctggatca gactggagta aaagaaaaaa 4740
aaaaaggaag acatgggttt aacagtaagc tcaaaacgtt gacagtagta aaataaaaagg 4800
ggtttgttca ctttatitcc aatatcaacc ttaccaacat ttggcggtga atcatttata 4860
ccacatcgct tgtgcagctg aatttggggc tgtttaaaag atggtctctt ggattgctaa 4920

ttgcctcgcg gcaagcgtgg taccttgtac aatataaata taattataac tatttaattt 4980
 cataaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaa 5005

<210> 72

<211> 4978

<212> DNA

<213> rice

<400> 72

gcgatctccc tgccccgacg tcgccggccg atctctcatt ctctccacgc cctgctcgtc 60
 gccgatctcc tacaccatcc ctgccatctc ctccctcccc tcccctctat cctccactgg 120
 tgccgcccac ctctccgtat aagacaaact gcgttgcggc gttggtttcc gccggcgctg 180
 ctgctgcacc tgtcagctag ggcgggcatg gcgcgccgcg ccgcttcccg cgctgttggc 240
 gcccttcgct cggacggctc gatccaaggg cgaggaggcc gcgcgggggg cagtggcgcc 300
 gaggacgcac gccacgtgtt cgacgaattg ctccgccgtg gcaggggcgc ctcgatctac 360
 ggcttgaacc gcgccctcgc cgacgtcgcg cgtgacagcc ccgcggccgc cgtgtcccgc 420
 tacaaccgca tggccccgagc cggcgccgac gaggttaact ccgacttgtg cacctacggc 480
 attctcatcg gttgctgctg ccgcgcgggc cgcttggacc tcggtttcgc gcccttgggc 540
 aatgtcatta agaagggtt tagagtggac gccatcgctt tcactcctct gctcaagggc 600
 ctctgtgccg acaagaggac gagcgacgca atggacatag tgctccgcag aatgaccgag 660
 ctcggtgca taccaaagt cttctcctac aatatcttc tcaaggggct gtgtgatgag 720
 aacagaagcc aagaagctct cgagctgctg cacatgatgg ctgatgatcg aggaggaggt 780
 agcccacctg atgtgggtgc gtataccact gtcatcaatg gcttcttcaa agagggggat 840
 tcagacaaag cttacagtac ataccatgaa atgctggacc gggggatttt acctgatgtt 900
 gtgacctaca actctattat tgctgcgta tgcaaggctc aagctatgga caaagccatg 960
 gaggtactta acaccatggt taagaatggt gtcatgcctg attgcatgac atataatagt 1020
 attctgcatg gatattgctc ttcagggcag ccgaaagagg ctattggatt tctcaaaaag 1080
 atgcgcagtg atgggtgcga accagatgtt gttacttata gcttgctcat ggattatctt 1140
 tgcaagaacg gaagatgcat ggaagctaga aagattttcg attctatgac caagaggggc 1200
 ctaaagcctg aaattactac ctatggtacc ctgcttcagg ggtatgctac caaaggagcc 1260

cttgttgaga tgcattggtct cttggatttg atggtacgaa acggtatcca ccctgatcat 1320
tatgttttca gcatttcta atgtgcatac gctaaacaag ggaaagtaga tcaggcaatg 1380
cttgtgttca gcaaaaatgag gcagcaagga ttgaatccga atgcagtac gtatggagca 1440
gttataggca tactttgcaa gtcaggcaga gtagaagatg ctatgcttta ttttgagcag 1500
atgatcgatg aaggactaag ccctggcaac attgtttata actcccta atcatggtttg 1560
tgcacctgta acaaatggga gagggctgaa gagttaattc ttgaaatgtt ggatcgaggc 1620
atctgtctga acactatttt ctttaattca ataattgaca gtcatgcaa agaaggagg 1680
gttatagaat ctgaaaaact ctttgagctg atggtacgta ttggtgtgaa gcccaatgtc 1740
attacctaca atactcttat caatggatat tgcctggcag gtaagatgga tgaagcaatg 1800
aagttacttt ctggcatggt ctcagttggg ttgaaacct aactgtttac ttatagcact 1860
ttgattaatg gctactgcaa aattagtagg atggaagacg cgttagttct ttttaaggag 1920
atggagagca gtgggtgttag tccctgatatt attacgtata acataattct gcaaggttta 1980
tttcaaacca gaagaactgc tgcctgcaaaa gaactctatg ttaggattac cgaaagtgga 2040
acgcagattg aacttagcac atacaacata atccctcatg gactttgcaa aaacaaactc 2100
actgatgatg cacttcagat gtttcagaac ctatgtttga tggatttgaa gcttgaggct 2160
aggactttca acattatgat tgatgcattg cttaaagttg gcagaaatga tgaagccaag 2220
gattttgttg ttgctttctc gtctaacggt ttagtgccga attattggac gtacaggttg 2280
atggctgaaa atattatagg acaggggttg ctagaagaat tggatcaact ctttctttca 2340
atggaggaca atggctgtac tgttgactct ggcatgctaa atttcattgt tagggaactg 2400
ttgcagagag gtgagataac cagggctggc acttaccttt ccatgattga tgagaagcac 2460
ttttccctcg aagcatccac tgccttcttg tttatagatc ttttgtctgg gggaaaatat 2520
caagaatatt ataggtttct cccgaaaaa tacaagtcct ttatagaatc tttgagctgc 2580
tgaagcattt tgcagctttg aaattctgtg ttggaattct tttctcctac agtcctatta 2640
gaggagggat cttctctgta tgtgtaaata gcgagtttga atgctagtgg aagctccttt 2700
gaccatgttt tgttgtgcga gcatttaaga gagtgaagag aatgcttctt tgggtgctgtt 2760
ctggtaigga aggatccaca gataaaattc aggttctact gcttctctgc ttgtaatttt 2820
catgaagctg cagtgaatac cttgttgacc acttgatctg ttgctttgaa ggagaatata 2880
gtagtggcca aggttgggtga cggatgatgt ggcatgtgat cccccagatc ttcagtgacc 2940
cagagaggag gggacggcgc gtgggtgagct acaaggcata ctcagtggag ggcaagatca 3000

aggcctcccg tccgtagggg actccgctgc atcaaggcca actgctccga actgatcaat 3060
ttcttggtgca gacagggtgct tgcgggtcagg ttaaagaagt tggcaaaaat gcttctgaag 3120
aaaggttaat tgttgtttca tctcaggaga ttccagatga tccagtgtct ccaacaattg 3180
aggcgcttat tttgctccat agtaaagtaa gtacacitgc tgagaaccac cagttgacaa 3240
cacggcttgt tgtaccatca aacaaagttg gttgtattct tggggaaggt ggaaaggtaa 3300
ttactgaaat gagaagacgg actggggctg aaatccgagt ctactcaaaa gcagataaac 3360
ctaagtiacct gtcttttgat gaggagcttg tgcaggttgc tgggcttcca gctattgaaa 3420
gaggagccct gacagagatt gcttcgaggc tttgaactag gacactcaga gatggaagtt 3480
cttccaataa tccgacacct tttgccccctg ttgatggtec tctgttgat atcttgccct 3540
acaaggaatt catgctatat ggacgatctg ctaatagtcc cccatatgga gggcctgcta 3600
atgatccacc atatggaaga cctgccattg atccaccata tggagacca atatccacaa 3660
tatggaagac ctgccaatga tccaccatat agaagacctg tcaatgatac atcatattga 3720
gggttgaaca atgatgggac tegtgatcag gcccggctct gaggggggtc gaatggggcg 3780
atcgctccgg gcccccgat tcccagggcc cccacctatc tgtgcaacga gtagtagcga 3840
tcttccagcg cgcaacgtga ggcgatgttt ctccgtgatt tcgccggcct gcaactgcga 3900
gatcgcgagt ataacgatca gccgatcga ctcatctgcc gactgccatg ctgatgccac 3960
acgcaagcgc agcatatcag cttatcttg gttgatcggc atgctggacg agcacatctg 4020
ttgtcgcatc aactgctgac tgctatatat gtgctgggtc tgaatcgatc gattgtcgtc 4080
acggaagtga agaacaacca cggcacitgt gcctgctggg ctctagccgc catcagtaag 4140
ctgcggagct gatccatgga cgtgaggatt accgaagact gtcaggctct actgggtatc 4200
caggtagctc tgtcgaattg tggattccaa atagttaact ggagtctgtc attggigtgtg 4260
gtggtgtcaa tctagctgag atccgtctgg tatagcgtaa gagaaacatc atgcactatc 4320
cccagtcata accatgcccc aatggccacc aatagtittc ctctgaaaa tctccccctg 4380
atcccagatc tctgggtgca gagtgaagtt gcacgaagcc catcctgggt cttccgagtc 4440
cattgtggag atccagggca ticcggatca agtgaaagcc gcacagagcc ttctgcaagg 4500
cttcatcggc gcaagcagca acagcaggca ggcgccccag tccctctgca tggccatta 4560
tttttagtaa gctggaggac attcgcaaca ggggggtcag tggtcactgc aaagctgagt 4620
ttgttcttca gttcaactgc agaaaattgc agatcggttg ccgtagtgtc tagaacggta 4680
catagttgcc acctaaactgt agcgagtggc ataacttatt gtgtgttact gcccattgtt 4740

gtctctcctt gtgttcatgg attcagactt gtgattgtag tatttctgga tcagactgga 4800
 gtaaaagaaa aaaaaaaagg aagacatggg tttaacagta agctcaaaac gttgacagta 4860
 gtaaaataaa aggggtttgt tcactttaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4920
 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaa 4978

<210> 73

<211> 4722

<212> DNA

<213> rice

<400> 73

cgccgatctc ctacaccatc cctgccatct cctccttccc ctccccctta tccctccactg 60
 gtgccgceca cctctccgta taagacaaac tgcgttgcgg cgttgggttc cgccggcgct 120
 gctgctgcac ctgtcagcta gggcgggcat ggcgcgccgc gccgcctccc gcgcgtttgg 180
 cgcccttcgc tcggacggct cgatccaagg gcgaggaggg cgcgcggggg gcagtggcgc 240
 cgaggacgca cgccacgtgt tcgacgaatt gctccgccgt ggcagggggcg cctcgatcta 300
 cggttgaac cgcgcccctc ccgacgtcgc gcgtgacagc cccgcggccg ccgtgtcccg 360
 ctacaaccgc atggcccag cggcgccga cgaggttaact cccgacttgt gcacctacgg 420
 cattctcatt ggttgcctgt gccgcgcggg ccgcttggac ctcggtttcg cggccttggg 480
 caatgtcatt aagaagggat ttagagtgga cgccatcgcc ttactcttc tgcctcaagg 540
 cctctgtgcc gacaagagga cgagcgacgc aatggacata gtgctccgca gaatgaccga 600
 gctcggtcgc ataccaaatg tcttctccta caatatctt ctcaaggggc tgtgtgatga 660
 gaacagaagc caagaagctc tcgagctgct gcacatgat gctgatgatc gaggaggagg 720
 tagcccacct gatgtgggtg cgtataccac tgtcatcaat ggcttcttca aagaggggga 780
 ttcagacaaa gcttacagta cataccatga aatgctggac cgggggattt taccigtatgt 840
 tgtgacctac aactctatta ttgctgcgtt atgcaaggct caagctatgg acaaagccat 900
 ggaggtactt aacacatgg ttaagaatgg tgtcatgcct gatlgcatga catataatag 960
 tattctgcat ggatattgct cttcagggca gccgaaagag gctattggat ttctcaaaaa 1020
 gatgcgcagt gatggtgtcg aaccagatgt tgttacttat agcttgctca tggattatct 1080
 ttgcaagaac ggaagatgca tggaagctag aaagattttc gattctatga ccaagagggg 1140

cctaaagcct gaaattacta cctatggta cctgcttcag gggtaatgcta ccaaaggagc 1200
ccttggtgag atgcatggc tcttggaatt gatggtaacga aacggatatcc accctgatca 1260
ttaatgtttc agcattctaa tatgtgcata cgctaaacaa gggaaagtag atcaggcaat 1320
gcttggtgtc agcaaaatga ggcagcaagg attgaatccg aatgcagatga cgtatggagc 1380
agttatagga atactttgca agtcaggcag agtagaagat gctatgcttt attttgagca 1440
gatgatgat gaaggactaa gccctggcaa cattgtttat aactccctaa ttcattggttt 1500
gtgcacctgt aacaaatggg agagggctga agagttaatt ctigaaatgt tggatcgagg 1560
catctgtctg aacactatit tctttaatic aataatigac agtcattgca aagaaggag 1620
ggttatagaa tctgaaaaac tctttgagct gatggtaacgt attggtgtga agcccaatgt 1680
cattacctac aatactctta tcaatggata ttgcttggca ggtaagatgg atgaagcaat 1740
gaagttaact tctggcatgg tctcagttgg gttgaaacct aatactgtta cttatagcac 1800
tttgattaat ggctactgca aaattagtag gatggaagac gcgttagttc tttttaagga 1860
gatggagagc agtgggtgtta gtcttgata tattacgtat aacataattc tgcaagggttt 1920
atttcaaacc agaagaactg ctgctgcaaa agaactctat gttaggatta ccgaaagtgg 1980
aacgcagatt gaacttagca catacaacat aatccttcat ggactttgca aaaacaaact 2040
cactgatgat gcacttcaga tgtttcagaa cctatgtttg atggatttga agcttgaggc 2100
taggactttc aacattatga ttgatgcatt gcttaaagtt ggcagaaatg atgaagccaa 2160
ggatttggtt gttgctttct cgtctaacgg ttttagtgccg aattattgga cgtacagggt 2220
gatggctgaa aatattatag gacaggggtt gctagaagaa ttggatcaac tctttctttc 2280
aatggaggac aatggctgta ctgttgactc tggcatgcta aatttcattg ttaggggaact 2340
gttcagaga ggtgagataa ccagggctgg cacttacctt tccatgattg atgagaagca 2400
cttttccctc gaagcatcca ctgcttccct gtttatagat cttttgtctg ggggaaaata 2460
tcaagaatat tataggtttc tccctgaaaa atacaagtcc tttatagaat ctttgagctg 2520
ctgaagcatt ttgcagcttt gaaattctgt gttggaattc ttttctccta cagtcctatt 2580
agaggaggga tcttctctgt atgtgtaaat agcgagtttg aatgctagtg gaagctcctt 2640
tgacatgtt ttgttggtcg agcatttaag agagtgaaga gaatgcttct ttggtgctgt 2700
tctggtaatg aaggatccac agataaaatt caggttctac tgcttctctg cttgtaattt 2760
tcatgaagct gcagtgaata ccttggtgac cacttgatct gttgctttga aggagaatat 2820
agtagtggcc aaggttgggt acggtgatgg tggcatgtga tccccagat cttcagtac 2880

ccagagagga ggggacggcg cgtgggtgagc tacaaggcat actcagtgga gggcaagatc 2940
 aaggcctccc gtccgiaggg gactccgctg catcaaggcc aactgctccg aactgatcaa 3000
 tttctggtagc agacaggtagc ttgcggtagc gttaaagaag ttggcaaaaa tgcttctgaa 3060
 gaaagggttaa ttgtttgttc atctcaggag attccagatg atccagtgtc tccaacaatt 3120
 gaggcgctta ttttgcctca tagtaaagtg gaaaggtaat tactgaaatg agaagacgga 3180
 ctggggctga aatccgagtc tactcaaaag cagataaacc taagtacctg tcttttgatg 3240
 aggagcttgt gcaggttgct gggtctccag ctattgaaag aggagccctg acagagattg 3300
 ctctcagggt ttgaactagg acactcagag atggaagtgc tccaataat ccgacacctt 3360
 ttgccccctg tgatggctct cctgttgata tcttgcttaa caaggaattc atgctatatg 3420
 gacgatctgc taatagctcc ccataatggag ggcttgctaa tgatccacca tatggaagac 3480
 ctgccattga tccaccatat ggaagaccaa tatccacaat atggaagacc tgccaatgat 3540
 ccaccatata gaagacctgt caatgataca tcatattgag gggtgaacaa tgatgggcct 3600
 cgtgatcagg cccggctcctg aggggggtcg aatggggcgga tcgctccggg cccccgatt 3660
 cccaggggccc ccacctatct gtgcaacgag tagtagcgat ctccagcgc gcaacgtgag 3720
 gcgatgtttc tccgtgattt cgccggcctg caactgcgag atcgcgagta taacgatcag 3780
 ccgatcgatc tcatctgccg actgccatgc tgatgccaca cgcaagcgca gcataatcagc 3840
 cttatcttgg ttgatcgcca tgctggacga gcacatctgt tctcgcatca actgctgact 3900
 gctatatatg tgctggigtct gaatcgatcg attgtcgtca cggaagtga gaacaaccac 3960
 ggcactgctg cctgctgggc tctagccgcc atcagctgcg gagctgatcc atggacgtga 4020
 ggattaccga agactgtcag gtctcactgg gtatccaggt ggctctgtcg aattgtggat 4080
 tccaatatgt taactggagt ctgtcattgg tgttggtagt gtcaatctag ctgagatccg 4140
 tctgggtatag cgtaagagaa acatcatgca ctatccccag tcataacat gccccaatgg 4200
 ccaccaatag ttttctctgt gaaaatctcc ccttgatccc agatctcttg tgcgagagt 4260
 aagttgcacg aagcccatcc tggttcttcc gagtccattg tggagatcca gggcattccg 4320
 gatcaagtga aagccgcaca gagccttctg caaggcttca tcggcgcaag cagcaacagc 4380
 aggcaggcgc cccagtcctc tcgcatggcc cattatitit agtaagctgg aggacattcg 4440
 caacaggggg gtcagtggtc actgcaaagc tgagtttgtt cttcagttca actgcagaaa 4500
 attgcagatc gggtgccgta gttgctagaa cgggtacatag ttgccacctt actgtagcga 4560
 gtggcataac ttattgtgtg ttactgcccc atgttgtctc tccttgtgtt catggattca 4620

gacttgtgat tgtagtattt ctggatcaga ctggagtaaa agaaaaaaaa aaaggaagac 4680
 atgggttttaa cagtaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aa 4722

<210> 74

<211> 6164

<212> DNA

<213> rice

<400> 74

cgcagaagag atcgatcgcg atctccctgc cccgacgtcg cgggccgac tctcattctc 60
 tccacgccct gctcgtcgcc gatctcctac accatccctg ccatctcctc ctccccctcc 120
 cctctatcct ccactggcgc cgcccacctc tccgtataag acaaactgcg ttgcggcggtt 180
 ggtttccgcc ggcgcctgctg ctgcacctgt cagctagggc gggcatggcg cgccgcgccg 240
 ctccccgcgc tgttggcgcc cttcgctcgg acggctcgat ccaagggcga ggaggccgcg 300
 cggggggcag tggcgccgag gacgcacgcc acgtgttcga cgaattgctc cgccgtggca 360
 ggggcgccct gatctacggc ttgaaccgcg ccttcgccga cgtcgcgcgt gacagccccg 420
 cggccgcctg gtcccgctac aaccgcatgg cccgagccgg cgccgacgag gtaactcccg 480
 acttgtgcac ctacggcatt ctcatcggtt gctgctgccg cgccggccgc ttggacctcg 540
 gtttcgcggc ctltgggcaat gtcattaaga agggatttag agtggacgcc atcgccctca 600
 ctccctctgt caagggcctc tgtgccgaca agaggacgag cgacgcaatg gacatagtgc 660
 tccgcagaat gaccgagctc ggctgcatac caaatgtctt ctccctacaat attcttctca 720
 aggggctgtg tgatgagaac agaagccaag aagctctcga gctgctgcac atgatggctg 780
 atgatcgagg aggaggtagc ccacctgatg tgggtgtcgt taccactgtc atcaatggct 840
 tcttcaaaga gggggattca gacaaagctt acagtacata ccatgaaatg ctggaccggg 900
 ggattttacc tgatgttgtg acctacaact ctattattgc tgcgttatgc aaggctcaag 960
 ctatggacaa agccatggag gtacttaaca ccatggttaa gaatgggtgtc atgcctgatt 1020
 gcatgacata taatagtatt ctgcatggat attgctcttc agggcagccg aaagaggcta 1080
 ttggatttct caaaaagatg cgcagtgatg gtgtcgaacc agatgttgtt acttatagct 1140
 tgctcatgga ttatctttgc aagaacggaa gatgcatgga agctagaaag attttcgatt 1200
 ctatgaccaa gaggggccta aagcctgaaa ttactaccta tgggtaccctg cttcagggtt 1260

atgctaccaa aggagccctt gttgagatgc atggctctctt ggatttgaig gtacgaaacg 1320
 gtatccaccc tgatcattat gttttcagca ttctaatatg tgcatacgct aaacaaggga 1380
 aagtagatca ggcaatgctt gtgttcagca aaatgaggca gcaaggattg aatccgaatg 1440
 cagtgacgta tggagcagtt ataggcatac ttigcaagtc aggagagta gaagatgcta 1500
 tgctttatit tgagcagatg atcgatgaag gactaagccc tggcaacatt gtttataact 1560
 ccctaattca tggtttgtgc acctgtaaca aatgggagag ggctgaagag ttaattcttg 1620
 aaatgttga tgcaggcatc tgtctgaaca ctatitctt taattcaata attgacagtc 1680
 attgcaaaga agggagggtt atagaatctg aaaaactctt tgagctgatg gtacgtattg 1740
 gtgtgaagcc caatgtcatt acctacaata ctcttatcaa tggatattgc ttggcaggta 1800
 agatggatga agcaatgaag ttactttctg gcatggcttc agttgggttg aaacctata 1860
 ctgttactta tagcactttg attaatggct actgcaaaat tagtaggatg gaagacgcgt 1920
 tagttctttt taaggagatg gagagcagtg gtgttagtcc tgatattatt acgtataaca 1980
 taattctgca aggtttatit caaaccagaa gaactgctgc tgcaaaagaa ctctatgtta 2040
 ggattaccga aagtggaacg cagatigaac ttagcacata caacataatc cticatggac 2100
 ttgcaaaaa caaactcact gatgatgcac ttcagatgtt tcagaacctt tgtttgatgg 2160
 atttgaagct tgaggctagg actttcaaca ttatgattga tgcattgctt aaagttggca 2220
 gaaatgatga agccaaggat ttgtttgttg ctttctcgtc taacggttta gtgccgaatt 2280
 attggacgta caggttgatg gctgaaaata ttataggaca ggggttgcta gaagaattgg 2340
 atcaactctt tctttcaatg gaggacaatg gctgtactgt tgactctggc atgctaaatt 2400
 tcattgttag ggaactgttg cagagaggtg agataaccag ggctggcact tacctttcca 2460
 tgattgatga gaagcacttt tccctcgaag catccactgc ttccttgitt atagatcttt 2520
 tgtctggggg aaaatatcaa gaatattata ggtttctccc tgaaaaatac aagtccttta 2580
 tagaatcttt gagctgctga agcatittgc agctttgaaa ttctgtgttg gaattctttt 2640
 ctcttacagt cctattagag gagggatctt ctctgtatgt gtaaatagcg aggtatgtat 2700
 gccacctctc cgaattatit ttactgtggt tcctagactg taaacaagca attatgttat 2760
 gctgttgatg ccagaaaaaa cataaaagtt tgtcgttate tctactaacg gatcataaag 2820
 ggatttgtga ctggagtctc aaacttaatg tgtctaggca gtaattttga cattagatcc 2880
 aaaacaattt atagggtttc attaaattc atctatgtgt actgtttagg tgttgaatag 2940
 ttigacttgt tttttaactg aacaaaagat atgtctgaag ctttgttctt taccaaatgc 3000

agtactgata atcacaatat attttttattg gaacaagatt ggatttgtata gaatggtttc 3060
 tgatctgatt atcttatctc aacgtattat tatgcacatg tactaatcat gaaatatctg 3120
 atggaatgat gtttctatit acctgtgtga ggcagcaagg agtgagatgg ataacaccac 3180
 atactccctc tgtcccagaa tataagaagt tttagagttag gacacgatta ttaagaaagt 3240
 aggtagaagt gagtagtggg gggtttgtat tgcatgagta gtggaggtag gtgggaaaag 3300
 tgaatggtag agggttgtga ttggttggga agagaatgtt ggtagagaag ttgtttatatt 3360
 ttggggagta cattattatt ctagaacaat actgttgtgc tcaagaagcg ttccaaagat 3420
 gtttcacaac ctgtgtctga tgggttttga gcttaatcct gggacattca gtatcatgat 3480
 ctgtctcatt cttaaacatg gaataaagga tgacagcatg atttctttgt ctctataatc 3540
 ttttggctac ccacagataa tagctgtaaa tctatactac tttaaaagga gtagtggtagg 3600
 tggtagtagg tgaatctgcc accacccac caccaactct caaaattctg acatgtggga 3660
 tcactgtcaa tcccttctcc aagacatgtg ggatcactgt caatcccttc tccaaacca 3720
 ttgtatgata gaacagtggg aatcacggac agaccatgga gctctcaacc ataatcatcc 3780
 ttgcgagtta ataacaaatg gagcgtaaac ttggcaagca aaaaactcaa attaatctta 3840
 aaattaagct ctaggattca aatagattt cctctctgca ttgtgtgtgt atgattttta 3900
 attccgtaac aacgcaaatg cattttgcta gtcttataaa gaagggttaa tgcaaatatt 3960
 ctgattaaat gattgtatct atgaagttg aatgctagtg gaagctcctt tgaccatgtt 4020
 ttgttgtgcg agcatttaag agagtgaaga gaatgcttct ttggtagtgt tctggtagtg 4080
 aaggatccac agataaaaatt caggttctac tgccttcttg cttgttaatt tcatgaagct 4140
 gcagtgaata ccttgttgac cacttgatct gttagcttga aggagaatat agtagtggcc 4200
 aaggttggtag acggtgatgg tggcatgtga tccccagat cttcagtga ccagagagga 4260
 ggggacggcg cgtggtagc tacaaggcat actcagtga gggcaagatc aaggcctccc 4320
 gtccgtaggg gactccgctg catcaaggcc aactgctccg aactgatcaa tttctggtag 4380
 agacaggtag ttgcggtcag gttaaagaag ttggcaaaaa tgcctctgaa gaaagggtta 4440
 ttgttgtttc atctcaggag attccagatg atccagtgtc tccaacaatt gaggcgctta 4500
 ttttgcctca tagtaaagta agtacacttg ctgagaacca ccagttgaca acacggcttg 4560
 ttgtaccatc aaacaaagtt ggttgtattc ttggggaagg tggaaaggta attactgaaa 4620
 tgagaagacg gactggggct gaaatccgag tctactcaaa agcagataaa cctaagtacc 4680
 tgtcttttga tgaggagctt gtgcaggtag ctgggcctcc agctattgaa agaggagccc 4740

```

tgacagagat tgcttcgagg ctttgaacta ggacactcag agatggaagt tcttccaata 4800
atccgacacc ttttgccctt gttgatggtc ctccctgttga tatcttgcct aacaaggaat 4860
tcatgctata tggacgatct gctaatagtc ccccataatgg agggcctgct aatgatccac 4920
catatggaag acctgccatt gatccaccat atggaagacc aatatccaca atatggaaga 4980
cctgccaatg atccaccata tagaagacct gtcaatgata catcataattg agggttgaac 5040
aatgatgggc ctctgtatca ggccccggtc tgaggggggt cgaatggggc gatcgctccg 5100
ggccccccga tccccagggc ccccacctat ctgtgcaacg agtagtagcg atcttccagc 5160
gcgcaacgtg aggcgatgtt tctccgigat ttccgccggc tgcaactgcg agatcgcgag 5220
tataacgac agccgatcga tctcatctgc cgactgccat gctgatgcca cacgcaagcg 5280
cagcataatca gccttatctt ggttgatcgg catgctggac gagcacatct gtgttcgcat 5340
caactgctga ctgctatata tgtgctgggt ctgaatcgat cgattgtcgt cacggaagtg 5400
aagaacaacc acggcactgc tgcctgctgg gctctagccg ccatcagctg cggagctgat 5460
ccatggacgt gaggattacc gaagactgtc aggtctcact gggatatccag gtggctctgt 5520
cgaattgtgg attccaaata gttaacigga gtctgtcatt ggtgttgggt gtgticaatct 5580
agctgagatc cgtctgggtat agcgtaagag aaacatcatg cactatcccc agtcataacc 5640
atgccccaat ggccaccaat agttttcctc gtgaaaatct ccccttgatc ccagatctct 5700
ggtgcgagag tgaagttgca cgaagcccat cctgggttctt ccgagtcctat tgtggagatc 5760
cagggcattc cggatcaagt gaaagccgca cagagccttc tgcaaggctt catcggcgca 5820
agcagcaaca gcaggcaggc gccccagtc tctcgcatgg ccattatatt ttagtaagct 5880
ggaggacatt cgcaacaggg gggtcagtgg tcactgcaaa gctgagtttg ttcttcagtt 5940
caactgcaga aaattgcaga tcggttgccg tagttgctag aacgggtacat agttgccacc 6000
taactgtagc gagtggcata acttatgttg tgttactgcc caatgttgtc tctccttgtg 6060
ttcatggatt cagacttgtg attgtagtat ttctggatca gactggagta aaagaaaaaa 6120
aaaaaggaag acatgggttt aacagtaaaa aaaaaaaaaa aaaa 6164

```

<210> 75

<211> 791

<212> PRT

<213> rice

<400> 75

Met	Ala	Arg	Arg	Ala	Ala	Ser	Arg	Ala	Val	Gly	Ala	Leu	Arg	Ser
1				5					10					15
Asp	Gly	Ser	Ile	Gln	Gly	Arg	Gly	Gly	Arg	Ala	Gly	Gly	Ser	Gly
				20					25					30
Ala	Glu	Asp	Ala	Arg	His	Val	Phe	Asp	Glu	Leu	Leu	Arg	Arg	Gly
				35					40					45
Arg	Gly	Ala	Ser	Ile	Tyr	Gly	Leu	Asn	Arg	Ala	Leu	Ala	Asp	Val
				50					55					60
Ala	Arg	Asp	Ser	Pro	Ala	Ala	Ala	Val	Ser	Arg	Tyr	Asn	Arg	Met
				65					70					75
Ala	Arg	Ala	Gly	Ala	Asp	Glu	Val	Thr	Pro	Asp	Leu	Cys	Thr	Tyr
				80					85					90
Gly	Ile	Leu	Ile	Gly	Cys	Cys	Cys	Arg	Ala	Gly	Arg	Leu	Asp	Leu
				95					100					105
Gly	Phe	Ala	Ala	Leu	Gly	Asn	Val	Ile	Lys	Lys	Gly	Phe	Arg	Val
				110					115					120
Asp	Ala	Ile	Ala	Phe	Thr	Pro	Leu	Leu	Lys	Gly	Leu	Cys	Ala	Asp
				125					130					135
Lys	Arg	Thr	Ser	Asp	Ala	Met	Asp	Ile	Val	Leu	Arg	Arg	Met	Thr
				140					145					150
Glu	Leu	Gly	Cys	Ile	Pro	Asn	Val	Phe	Ser	Tyr	Asn	Ile	Leu	Leu
				155					160					165
Lys	Gly	Leu	Cys	Asp	Glu	Asn	Arg	Ser	Gln	Glu	Ala	Leu	Glu	Leu
				170					175					180
Leu	His	Met	Met	Ala	Asp	Asp	Arg	Gly	Gly	Gly	Ser	Pro	Pro	Asp
				185					190					195
Val	Val	Ser	Tyr	Thr	Thr	Val	Ile	Asn	Gly	Phe	Phe	Lys	Glu	Gly
				200					205					210

Asp Ser Asp Lys Ala Tyr Ser Thr Tyr His Glu Met Leu Asp Arg		
	215	220 225
Gly Ile Leu Pro Asp Val Val Thr Tyr Asn Ser Ile Ile Ala Ala		
	230	235 240
Leu Cys Lys Ala Gln Ala Met Asp Lys Ala Met Glu Val Leu Asn		
	245	250 255
Thr Met Val Lys Asn Gly Val Met Pro Asp Cys Met Thr Tyr Asn		
	260	265 270
Ser Ile Leu His Gly Tyr Cys Ser Ser Gly Gln Pro Lys Glu Ala		
	275	280 285
Ile Gly Phe Leu Lys Lys Met Arg Ser Asp Gly Val Glu Pro Asp		
	290	295 300
Val Val Thr Tyr Ser Leu Leu Met Asp Tyr Leu Cys Lys Asn Gly		
	305	310 315
Arg Cys Met Glu Ala Arg Lys Ile Phe Asp Ser Met Thr Lys Arg		
	320	325 330
Gly Leu Lys Pro Glu Ile Thr Thr Tyr Gly Thr Leu Leu Gln Gly		
	335	340 345
Tyr Ala Thr Lys Gly Ala Leu Val Glu Met His Gly Leu Leu Asp		
	350	355 360
Leu Met Val Arg Asn Gly Ile His Pro Asp His Tyr Val Phe Ser		
	365	370 375
Ile Leu Ile Cys Ala Tyr Ala Lys Gln Gly Lys Val Asp Gln Ala		
	380	385 390
Met Leu Val Phe Ser Lys Met Arg Gln Gln Gly Leu Asn Pro Asn		
	395	400 405
Ala Val Thr Tyr Gly Ala Val Ile Gly Ile Leu Cys Lys Ser Gly		
	410	415 420
Arg Val Glu Asp Ala Met Leu Tyr Phe Glu Gln Met Ile Asp Glu		

425	430	435
Gly Leu Ser Pro Gly Asn Ile Val Tyr Asn Ser Leu Ile His Gly		
440	445	450
Leu Cys Thr Cys Asn Lys Trp Glu Arg Ala Glu Glu Leu Ile Leu		
455	460	465
Glu Met Leu Asp Arg Gly Ile Cys Leu Asn Thr Ile Phe Phe Asn		
470	475	480
Ser Ile Ile Asp Ser His Cys Lys Glu Gly Arg Val Ile Glu Ser		
485	490	495
Glu Lys Leu Phe Glu Leu Met Val Arg Ile Gly Val Lys Pro Asn		
500	505	510
Val Ile Thr Tyr Asn Thr Leu Ile Asn Gly Tyr Cys Leu Ala Gly		
515	520	525
Lys Met Asp Glu Ala Met Lys Leu Leu Ser Gly Met Val Ser Val		
530	535	540
Gly Leu Lys Pro Asn Thr Val Thr Tyr Ser Thr Leu Ile Asn Gly		
545	550	555
Tyr Cys Lys Ile Ser Arg Met Glu Asp Ala Leu Val Leu Phe Lys		
560	565	570
Glu Met Glu Ser Ser Gly Val Ser Pro Asp Ile Ile Thr Tyr Asn		
575	580	585
Ile Ile Leu Gln Gly Leu Phe Gln Thr Arg Arg Thr Ala Ala Ala		
590	595	600
Lys Glu Leu Tyr Val Arg Ile Thr Glu Ser Gly Thr Gln Ile Glu		
605	610	615
Leu Ser Thr Tyr Asn Ile Ile Leu His Gly Leu Cys Lys Asn Lys		
620	625	630
Leu Thr Asp Asp Ala Leu Gln Met Phe Gln Asn Leu Cys Leu Met		
635	640	645

Asp Leu Lys Leu Glu Ala Arg Thr Phe Asn Ile Met Ile Asp Ala		
	650	655 660
Leu Leu Lys Val Gly Arg Asn Asp Glu Ala Lys Asp Leu Phe Val		
	665	670 675
Ala Phe Ser Ser Asn Gly Leu Val Pro Asn Tyr Trp Thr Tyr Arg		
	680	685 690
Leu Met Ala Glu Asn Ile Ile Gly Gln Gly Leu Leu Glu Glu Leu		
	695	700 705
Asp Gln Leu Phe Leu Ser Met Glu Asp Asn Gly Cys Thr Val Asp		
	710	715 720
Ser Gly Met Leu Asn Phe Ile Val Arg Glu Leu Leu Gln Arg Gly		
	725	730 735
Glu Ile Thr Arg Ala Gly Thr Tyr Leu Ser Met Ile Asp Glu Lys		
	740	745 750
His Phe Ser Leu Glu Ala Ser Thr Ala Ser Leu Phe Ile Asp Leu		
	755	760 765
Leu Ser Gly Gly Lys Tyr Gln Glu Tyr Tyr Arg Phe Leu Pro Glu		
	770	775 780
Lys Tyr Lys Ser Phe Ile Glu Ser Leu Ser Cys		
	785	790 791

<210> 76

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 76

tctcattctc tccacgccct gctc 24

<210> 77
<211> 24
<212> DNA
<213> artificial sequence
<220>
<223> Oligonucleotide primer for amplification
<400> 77
acggcggagc aattcgtcga acac 24

<210> 78
<211> 24
<212> DNA
<213> artificial sequence
<220>
<223> Oligonucleotide primer for amplification
<400> 78
agtgtgtggc atggtgcatt tccg 24

<210> 79
<211> 24
<212> DNA
<213> artificial sequence
<220>
<223> Oligonucleotide primer for amplification
<400> 79
ctctacagga tacacgggtgt aagg 24

<210> 80

<211> 4746

<212> DNA

<213> rice

<400> 80

gccgcgcaga agagatcgat cgcgatctcc ctgccccgac gtcgccggcc gatctctcat 60
tctctccacg ccttgcctgt cgcgatctc ctacaccatc cctgccatct cctccttccc 120
ctccccctta tcttccactg gtgccgcccc cctctccgta taagacaaac tgcgttgcgg 180
cgttggtttc cgcgggcgt gctgcctgac ctgtcagcta gggcgggcat ggcgcgccgc 240
gccgcttccc gcgctgttgg cgccttctgc tggacggct cgaaccaagg gcgaggaggc 300
cgcgcggggg gcagtggcgc cgaggacgca cgccacgtgt tcgacgaatt gctccgccgt 360
ggcagggggc cctcgatcta cggcttgaac cgcgccctcg ccgacgtcgc gcgtgacagc 420
cccgcggccg ccgtgtcccg ctacaaccgc atggcccag cggcgccga cgaggtaact 480
cccgacttgt gcacctacgg cattctcatc ggttgcctgt gccgcgcggg ccgcttggac 540
ctcggttttc cggccttggg caatgtcatt aagaagggat ttagagtgga cgccatcgcc 600
ttcactcctc tgcctcaagg cctctgtgcc gacaagagga cgagcgacgc aatggacata 660
gtgctccgca gaatgaccga gctcggctgc ataccaaagt tcttctctta caatattctt 720
ctcaaggggc tgtgtgatga gaacagaagc caagaagctc tcgagctgct gcacatgatg 780
gctgatgatc gaggaggagg tagcccacct gatgtggtgt cgtataccac tgtcatcaat 840
ggcttcttca aagaggggga ttccagacaaa gcttacagta cataccaatga aatgctggac 900
cgggggattt tacctgatgt tgtgacctac aactctatta ttgctgcgtt atgcaaggct 960
caagctaagg acaaagccat ggaggctactt aacaccatgg ttaagaatgg tgtcatgcct 1020
gattgcatga catataatag tattctgcat ggatatgtct cttcagggca gccgaaagag 1080
gctatiggat ttctcaaaaa gatgcgcagt gatgggtgtc aaccagatgt tgttacttat 1140
agcttgctca tggattatct ttgcaagaac ggaagatgca tgggaagctag aaagattttc 1200
gattctatga ccaagagggg cctaaagcct gaaattacta cctatggtac cctgcttcag 1260
gggtatgcta ccaaaggagc ccttgttag atgcatggtc tcttggattt gatggtacga 1320
aacggtaacc accctgatca ttatgttttc agcattctaa tatgtgcata cgctaaacaa 1380
gggaaagtag atcaggcaat gcttgtgttc agcaaaatga ggcagcaagg attgaatccg 1440
aatgcagtga cgtatggagc agttataggc atactttgca agtcaggcag agtagaagat 1500

gctatgcctt attttgagca gatgatcgat gaaggactaa gccctggcaa cattglttat 1560
aactccctaa ttcatgggtt gtgcacctgt aacaaatggg agagggctga agagttaatt 1620
cttgaaatgt tggatcgagg catctgtctg aacactatit tctttaattc aataattgac 1680
agtcattgca aagaaggag gggtatagaa tctgaaaaac tctttgagct gatgggtacgt 1740
attgggtgtga agcccaatgt cattacctac aatactctta tcaatggata ttgcttggca 1800
ggtaagatgg atgaagcaat gaagttactt tctggcatgg tctcagttgg gttgaaacct 1860
aatactgtta cttatagcac ttigtatatt ggctactgca aaattagtag gatggaagac 1920
gcgttagttc tttttaagga gatggagagc agtgggtgtta gtccctgatat tattacgtat 1980
aacataattc tgcaagggtt atttcaaacc agaagaactg ctgctgcaaa agaactctat 2040
gttaggatta ccgaaagtgg aacgcagatt gaacttagca catacaacat aatccitcat 2100
ggactttgca aaaacaaact cactgatgat gcacttcaga tgtttcagaa cctatgtttg 2160
atggatttga agcttgaggc taggactttc aacattatga ttgatgcatt gcttaaagtt 2220
ggcagaaaatg atgaagccaa ggatttgttt gttgctttct cgtctaacgg tttagtgccg 2280
aattatttga cgtacaggtt gatggctgaa aatattatag gacaggggtt gctagaagaa 2340
ttggatcaac tctttctttc aatggaggac aatggctgta ctgttgactc tggcatgcta 2400
aatttcattg ttagggaact gttgcagaga ggtgagataa ccagggtgg cacttacctt 2460
tccatgattg atgagaagca cttttccctc gaagcatcca ctgcttccct gtttatagat 2520
cttttgtctg ggggaaaata tcaagaatat tataggtttc tccctgaaaa atacaagtcc 2580
tttatagaat ctttgagctg ctgaagcatt ttgcagcttt gaaattctgt gttggaattc 2640
ttttctccta cagtcctatt agaggaggga tcttctctgt atgtgtlaaat agcgagtttg 2700
aatgctagtg gaagctcctt tgaccatgtt ttgttgtgcg agcatllaag agagtgaaga 2760
gaatgcttct ttggtgctgt tctggtatgg aaggatccac agataaaatt cagtagtggc 2820
caagglttgg gacggltgat gtggcatgtg atccccaga tcttcagtga cccagagagg 2880
aggggacggc gcgtgggtgag ctacaaggca tactcagtgg agggcaagat caaggcctcc 2940
cgtccgtagg ggactccgct gcatcaaggc caactgctcc gaactgatca atttctgggtg 3000
cagacagggt ctgtcggtca gggttaaagaa gttggcaaaa atgcttctga agaaaggtta 3060
attgttgttt catctcagga gattccagat gatccagtgt ctccaacaat tgaggcgctt 3120
attttgctcc atagtaaagt aagtacactt gctgagaacc accagttgac aacacggctt 3180
gttgtacct caaacaaggt tggttgtatt cttggggaag gtggaaaggt aattactgaa 3240

```

atgagaagac ggactggggc tgaaatccga gtctactcaa aagcagataa acctaagtac 3300
ctgtcttttg atgaggagct tgtgcaggtt gctgggcttc cagctattga aagaggagcc 3360
ctgacagaga ttgcttcgag gctttgaact aggacactca gagatggaag ttcttccaat 3420
aatccgacac cttttgcccc tgttgatggt cctccgttg atatcttgcc taacaaggaa 3480
ttcatgctat atggacgac tgctaatagt ccccatatg gagggcctgc taatgatcca 3540
ccatatggaa gacctgccat tgatccacca tatggaagac caatatccac aatatggaag 3600
acctgccaat gatccacat atagaagacc tgtcaatgat acatcataat gagggttgaa 3660
caatgatggg cctcgtgatc aggcccggtc ctgagggggg tcgaatgggg cgatcgctcc 3720
gggccccccg attcccaggg cccccaccta tctgtgcaac gagtagtagc gatcttccag 3780
cgcgcaacgt gaggcgatgt ttctccgtga ttctgccggc ctgcaactgc gagatcgca 3840
gtataacgat cagccgatcg atctcatctg ccgactgcca tgcctgatgcc acacgcaagc 3900
gcagcatatc agccttatct tggttgatcg gcatgctgga cgagcacatc tgttgtcgca 3960
tcaactgctg actgclatal atgtgctggt gctgaatcga tcgattgtcg tcacggaagt 4020
gaagaacaac cacggcactg ctgccgtgct ggctctagcc gccatcagct gcggagctga 4080
tccatggacg tgaggattac cgaagactgt caggctcac tgggtatcca ggtggctctg 4140
tcgaattgtg gattccaaat agttaactgg agtctgtcat tgggtgttgt ggtgtcaatc 4200
tagctgagat ccgtctggta tagcgtaaga gaaacatcat gcactatccc cagtcataac 4260
catgccccaa tggccacca tagttttcct cgtgaaaatc tccccttgat cccagatctc 4320
tgggtcgaga gtgaagtgc acgaagccca tccgtggttct tccgagtcca ttgtggagat 4380
ccagggcatt ccggatcaag tgaaagccgc acagagcctt ctgcaaggct tcatcggcgc 4440
aagcagcaac agcaggcagg cgccccagtc ctctcgcatg gccattatt tttagtaagc 4500
tggaggacat tcgcaacagg ggggtcagtg gtcactgcaa agctgagttt gttcttcagt 4560
tcaactgcag aaaattgcag atcggttgcc gtagttgcta gaacggtaca tagttgccac 4620
ctaactgtag cgagtggcat aacttattgt gtgttactgc ccaatgttgt ctctccttgt 4680
gttcatggat tcagacttgt gattgtagta ttcttggtat agactggagt aaaagaaaaa 4740
aaaaaa
4746

```

<210> 81

<211> 4779

<212> DNA

<213> rice

<400> 81

```

tctcatcttc tccacgccct gctcgtcgcc gatctcctac accatccctg ccatctcctc 60
cttccccctc cctctatcct ccactgggtgc cgcccacctc tccgtataag acaaactgcg 120
ttggcggcgtt ggtttccgcc ggcgctgctg ctgcacctgt cagctagggc gggcatggcg 180
cgccgcgccc cttcccgcgc tgttggcgcc cttcgctcgg acggctcgat ccaagggcga 240
ggaggccgcg cggggggcag tggcgccgag gacgcacgcc acgtgttcga cgaattgctc 300
cgccgtggca ggggcgcctc gatctacggc ttgaaccgcg ccttcgccga cgtcgcgcgt 360
gacagccccg cggccgccgt gtcccgctac aaccgcatgg cccgagccgg cgccgacgag 420
gtaactcccc acttgtgcac ctacggcatt ctcatcggtt gctgcctggc cgcgggccgc 480
ttggacctcg gtttcgcggc ctitgggcaat gtcattaaga agggatttag agtggacgcc 540
atcgccitca ctccctctgt caagggcctc tgtgccgaca agaggacgag cgacgcaatg 600
gacatagtgc tccgcagaat gaccgagctc ggctgcatac caaatgtctt ctccataaat 660
attcttctca aggggcctgt tgatgagaac agaagccaag aagctctcga gctgctgcac 720
atgatggctg atgatcgagg aggaggtagc ccacctgatg tgggtgtcgt taccactgtc 780
atcaatggct tcttcaaaga gggggattca gacaaagctt acagtacata ccatgaaatg 840
ctggaccggg ggattttacc tgatgttgtg acctacaact ctattattgc tgcgttatgc 900
aaggctcaag ctatggacaa agccatggag gtacttaaca ccatggttaa gaatgggtgtc 960
atgcctgatt gcatgacata taatagtatt ctgcatggat attgctcttc agggcagccg 1020
aaagaggcta ttggatttct caaaaagatg cgcagtgatg gtgtcgaacc agatgttgtt 1080
acttatagct tgcctatgga ttatctttgc aagaacggaa gatgcatgga agctagaaag 1140
attttcgatt ctatgaccaa gaggggccta aagcctgaaa ttactaccta tggtagcctg 1200
cttcaggggt atgctaccaa aggagccctt gttgagatgc atggctctct ggatttgatg 1260
gtacgaaacg gtatccaccc tgatcattat gttttcagca ttctaatatg tgcatacgct 1320
aaacaaggga aagtagatca ggcaatgctt gtgttcagca aaatgaggca gcaaggattg 1380
aatccgaatg cagtgcgta tggagcagtt ataggcatac tttgcaagtc aggcagagta 1440
gaagatgcta tgctttatit tgagcagatg atcgatgaag gactaagccc tggcaacatt 1500
gtttataact ccctaattca tggtttgtgc acctgtaaca aatgggagag ggctgaagag 1560

```

ttaatticttg aaatgttggg tggaggcatc tgcctgaaca ctattttctt taattcaata 1620
attgacagtc attgcaaaga agggagggtt atagaatctg aaaaactctt tgagctgatg 1680
gtacglattg gtgtgaagcc caatgtcatt acctacaata ctcctatcaa tggatattgc 1740
ttggcaggta agatggatga agcaatgaag ttactttctg gcatggcttc agttgggttg 1800
aaacctaaata ctgttactta tagcacittg attaatggct actgcaaaat tagtaggatg 1860
gaagacgcgt tagttctttt taaggagatg gagagcagtg gtgttagtcc tgatattatt 1920
acgtataaca taattctgca aggtttatit caaaccagaa gaactgctgc tgcaaaagaa 1980
ctctatgtta ggattaccga aagtggaaac cagattgaac ttagcacata caacataatc 2040
cttcatggac ttgtcaaaaa caaactcact gatgatgcac ttcagatgtt tcagaacctt 2100
tgtttgatgg atttgaagct tgaggctagg actttcaaca ttatgattga tgcatgtctt 2160
aaagtiggca gaaatgatga agccaaggat ttgtttgttg ctttctcgtc taacggttta 2220
gtgccgaatt attggacgta caggttgatg gctgaaaata ttataggaca ggggttgcta 2280
gaagaattgg atcaactctt tctttcaatg gaggacaatg gcctactgtt tgactctggc 2340
atgctaaatt tcattgttag ggaactgttg cagagagggt agataaccag ggctggcact 2400
tacctttcca tgattgatga gaagcacitt tccctcgaag catccactgc ttccttgttt 2460
atagatcttt tgcctggggg aaaataatca gaatattata ggtttctccc tgaaaaatac 2520
aagtccttta tagaatcttt gagctgctga agcattttgc agctttgaaa ttcctgtgtg 2580
gaattctttt ctctacagt cctattagag gagggatctt ctctgtatgt gtaaatagcg 2640
agtttgaatg ctatgggaag ctctttgac catgttttgt ttgtcgagca ttttaagagag 2700
tgaagagaat gcttcttttg tgctgttctg gtatggaagg atccacagat aaaattcagg 2760
agaatatagt agtggccaag gttgggtgac gtgatgggtg catgtgatcc cccagatctt 2820
cagtgacca gagaggagg gacggcgcgt ggtgagctac aaggcatact cagtggaggg 2880
caagatcaag gcctcccgtc cgtaggggac tccgctgcat caaggccaac tgctccgaac 2940
tgatcaattt ctgggtcaga caggtgcttg cggtcagggt aaagaagttg gcaaaaatgc 3000
ttctgaagaa aggttaattg ttgtttcatc tcaggagatt ccagatgatc cagtgtctcc 3060
aacaattgag ggccttattt tgctccatag taaagtaagt acacttgctg agaaccacca 3120
gttgacaaca cggcttggtg taccatcaaa caaagtgggt tgtattcttg gggaagggtg 3180
aaaggtaatt actgaaatga gaagacggac tggggctgaa atccgagtct actcaaaagc 3240
agataaacct aagtacctgt cttttgatga ggagcttgtg caggttgctg ggcttccagc 3300

tattgaaaga ggagccctga cagagattgc ttcgaggctt tgaactagga cactcagaga 3360
tggaagtict tccaataatc cgacaccttt tgccccigtg gatggtcctc ctgttgatat 3420
cttgcciaac aaggaattca tgctatatgg acgatctgct aatagtcctc catatggagg 3480
gcctgctaat gatccacat atggaagacc tgccattgat ccaccatatg gaagaccaat 3540
atccacaata tggaagacct gccaatgac caccatatag aagacctgtc aatgatacat 3600
catattgagg gtigaacaat gatgggcctc gtgatcaggc ccggctcctga ggggggtcga 3660
atggggcgat cgctccgggc cccccgattc ccagggtccc cacctatctg tgcaacgagt 3720
agtagcgatc ttccagcgcg caacgtgagg cgatgtttct ccgtgatttc gccggcctgc 3780
aactgcgaga tcgcgagtat aacgatcagc cgatcgatct catctgccga ctgccatgct 3840
gatgccacac gcaagcgcag catatcagcc ttatcttggt tgatcggcct gctggacgag 3900
cacatctgtt gtgcgatcaa ctgctgactg ctatataatgt gctgggtgctg aatcgatcga 3960
ttgtcgtcac ggaagtgaag aacaaccacg gcactgctgc ctgctgggct ctagccgcca 4020
tcagctgcgg agctgatcca tggacgtgag gattaccgaa gactgtcagg tctcactggg 4080
tatccagggt gctctgtcga attgtggatt ccaaatagtt aactggagtc tgtcattggt 4140
gttgggtggt tcaatctagc tgagatccgt ctggtatagc gtaagagaaa catcatgcac 4200
tatccccagt cataaccatg ccccaatggc caccaatagt ttctctcgtg aaaatctccc 4260
cttgatccca gatctctggt gcgagagtga agttgcacga agcccatcct ggttcttccg 4320
agtccattgt ggagatccag ggcatctcgg atcaagtga agccgcacag agccttctgc 4380
aaggcttcat cggcgcaagc agcaacagca ggcaggcgcc ccagtcctct cgcatggccc 4440
attatittta gtaagctgga ggacatctgc aacagggggg tcagtgggtc ctgcaaagct 4500
gagtttgttc ttcagttcaa ctgcagaaaa ttgcagatcg gttgccgtag ttgctagaac 4560
ggtacatagt tgccacctaa ctgtagcgag tggcataact tattgtgtgt tactgccccaa 4620
tgttgtctct ccttgtgttc atggattcag acttgtgatt gtagtatttc tggatcagac 4680
tggagtaaaa gaaaaaaaaa aaggaagaca tgggtttaac agtaaaaaaa aaaaaaaaaa 4740
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4779

<210> 82

<211> 6158

<212> DNA

<213> rice

<400> 82

cgcgcagaag agatcgatcg cgatctccct gccccgacgt cgccggccga tctctcattc 60
 tctccacgcc ctgctcgtcg ccgatctcct acaccatccc tgccatctcc tccttccctt 120
 cccctctatc ctccactggg gccgcccacc tctccglata agacaaactg cgttgcggcg 180
 ttggtttccg ccggcgctgc tgcctgcacct gtcagctagg gcgggcatgg cgcgccgcgc 240
 cgcttccccg gctgttggcg ccttctgcct ggacggctcg atccaagggc gaggaggccg 300
 cgcggggggc agtggcgccg aggacgcacg ccacgtgttc gacgaattgc tccgccgtgg 360
 caggggcgcc tcgatctacg gcttgaaccg cgccctcgcc gacgtcgcgc gtgacagccc 420
 cgcgcccgcc gtgtcccgct acaaccgcat ggcccgagcc ggcgccgacg aggttaactcc 480
 cgacttgtgc acctacggca ttctcatcgg ttgctgctgc cgcgcgggcc gcttggacct 540
 cggtttcgcg gccttgggca atgtcattaa gaagggattt agagtggacg ccatcgcttt 600
 cactcctctg ctcaagggcc tctgtgccga caagaggacg agcgacgcaa tggacatagt 660
 gctccgcaga atgaccgagc tcggctgcat accaaatgtc ttctcctaca atattcttct 720
 caaggggctg tgtgatgaga acagaagcca agaagctctc gagctgctgc acatgatggc 780
 tgatgatcga ggaggaggta gccaccctga tgtgggtgtc tataccactg tcatcaatgg 840
 cttcttcaaa gagggggatt cagacaaagc ttacagtaca taccatgaaa tgctggaccg 900
 ggggatitita cctgatgttg tgacctaca cttctattatt gctgcgttat gcaaggctca 960
 agctatggac aaagccatgg aggtacttaa caccatgggt aagaatggtg tcatgcctga 1020
 ttgcatgaca tataatagta ttctgcatgg atattgctct tcagggcagc cgaaagaggc 1080
 tattggattt ctcaaaaaga tgcgcagtga tgggtgtcga ccagatgttg ttacttatag 1140
 ctgtctcatg gattatcttt gcaagaacgg aagatgcatg gaagctagaa agattttcga 1200
 ttctatgacc aagaggggcc taaagcctga aattactacc tatggtaccc tgcctcaggg 1260
 gtatgctacc aaaggagccc ttgttgagat gcatggctct ttggatttga tggtagaaa 1320
 cggatatccac cctgatcatt atgttttcag catictaata tgtgcatacg cttaaacaagg 1380
 gaaagtagat caggcaatgc ttgtgttcag caaatgagg cagcaaggat tgaatccgaa 1440
 tgcagtgacg tatggagcag ttataggcat actttgcaag tcaggcagag tagaagatgc 1500
 tatgccttat tttaggcaga tgatcgatga aggactaagc cctggcaaca ttgtttataa 1560
 ctccctaatt catgggttgt gcacctgtaa caaatgggag agggctgaag agttaattct 1620

tgaaatgttg gatcgaggca tctgtctgaa cactatittc ttttaattcaa taattgacag 1680
 tcattgcaaa gaagggaggg ttatagaatc tgaaaaactc tttgagctga tggtagctat 1740
 tgggtgtgaag cccaatgtca ttacctacaa tactcttata aatggatatt gcttggcagg 1800
 taagatggat gaagcaatga agttactttc tggcatggtc tcagttgggt tgaaacctaa 1860
 tactgttact tatagcactt tgattaatgg ctactgcaaa attagtagga tggaagacgc 1920
 gttagttctt ttttaaggaga tggagagcag tgggtgttagt cctgatatta ttacgtataa 1980
 cataattctg caaggtttat ttcaaaccag aagaactgct gctgcaaaag aactctatgt 2040
 taggattacc gaaagtggaa cgcagattga acttagcaca tacaacataa tccttcatgg 2100
 actttgcaaa aacaaactca ctgatgatgc acttcagatg tttcagaacc tatgtttgat 2160
 ggatttgaag cttagaggta ggactttcaa cattatgatt gatgcattgc ttaaagttgg 2220
 cagaaatgat gaagccaagg atttgtttgt tgcittctcg tctaacgggt tagtgccgaa 2280
 ttattggacg tacaggttga tggctgaaaa tattatagga caggggttgc tagaagaatt 2340
 ggatcaactc tttctttcaa tggaggacaa tggctgtact gttagactctg gcatgctaaa 2400
 tttcattgtt agggaactgt tgcagagagg tgagataacc agggctggca cttacctttc 2460
 catgatlgat gagaagcact tttccctcga agcatccact gcttccttgt ttatagatct 2520
 tttgtctggg ggaaaatac aagaatatta taggtttctc cctgaaaaat acaagtcctt 2580
 tatagaatct ttgagctgct gaagcatttt gcagctttga aattcttgtt tggaattctt 2640
 ttctcttaca gtcctattag aggagggatc ttctctgtat gtgtaaatag cgaggtatgt 2700
 atgccacctc tccgaattat ttttactgtg gttccttagac tgtaaacaag caattatgtt 2760
 atgctgttga tgccagaaaa aacataaaaag tttgtcgtta tctctactaa cggatcataa 2820
 agggatttgt gactggagtt tcaaacttaa tgtgtctagg cagtaatttt gacattagat 2880
 ccaaaacaat ttatagggtt tcattaaatt tcatctatgt gtactgttta ggtgttgaat 2940
 agtttgactt gttttttaac tgaacaaaag atatgtctga agctttgttc tttaccaaatt 3000
 gcagtactga tcatcacaat atatttttta tggacaaga ttggattgta tagaatgggt 3060
 tctgatctga ttatcttata tcaacgtatt attatgcaca tgtactaatc atgaaataac 3120
 tgatggaatg atgtttctat ttaccttgtt gaggcagcaa ggagtgagat ggataacacc 3180
 acatactccc tctgtcccag aatataagaa gttttagagt tggacacgat tattaagaaa 3240
 gtaggtagaa gtgagtagtg gagggttgtg attgcatgag tagtggaggt aggtgggaaa 3300
 agtgaatggg ggagggttgt gattggttgg gaagagaatg ttggtagaga agttgttata 3360

ttttggggag tacattatta ttctagaaca atactgttgt gctcaagaag cgttccaaag 3420
atgtttcaca acctgtgctc gatggggttt gagcttaatc ctgggacatt cagtatcatg 3480
atctgtctca ttcttaaaca tggaaataaag gatgacagca tgatttcttt gtctctataa 3540
tcttttggct acccacagat aatagctgta aatctatact actttaaaag gagtagtggg 3600
ggtaggtgagt ggtgaatctg ccaccacccc accaccaact ctcaaaaattc tgacatgtgg 3660
gatcactgtc aatcccttct ccaagacatg tgggatcact gtcaatccct tctccaaacc 3720
aattgtatga tagaacagtg gaaatcacgg acagaccaatg gagctctcaa ccataatcat 3780
ccttgcgagt taataacaaa tggagcgtaa acttggcaag caaaaaactc aaattaattc 3840
taaaattaag ctctaggatt caaaatagat ttccctctctg catgtgtgtg ttatgatit 3900
taattccgta acaacgcaa tgcattttgc tagtcttata aagaagggtt aatgcaaata 3960
ttctgattaa atgattgtat ctatgaagtt tgaatgctag tggaggtcc ttgaccatg 4020
ttttgttgtg cgagcattta agagagtga gagaatgctt ctttgggtgt gtcttggtat 4080
ggaaggatcc acagataaaa ttcaggagaa tatagtagtg gccaaagggtg gtgacgggtga 4140
tggtggcatg tgatcccca gatcttcagt gaccagaga ggaggggacg gcgcgtggtg 4200
agctacaagg catactcagt ggagggcaag atcaaggcct cccgtccgta ggggactccg 4260
ctgcatcaag gccaaactgt ccgaactgat caatttctgg tgcagacagg tgcttgcgtg 4320
caggltaaag aagtggcaa aaatgcttct gaagaaaggt taattgttgt ttcatctcag 4380
gagattccag atgatccagt gtctccaaca attgaggcgc ttattttgtt ccatagtaaa 4440
gtaagtiacac ttgctgagaa ccaccagttg acaacacggc ttgttgtacc atcaaaaaa 4500
gttgggtgtg ttcttgggga aggtggaaag gtaattactg aaatgagaag acggactggg 4560
gctgaaatcc gagtctactc aaaagcagat aaacctaatg accgtctttt tgatgaggag 4620
cttgtgcagg ttgctgggct tccagctatt gaaagaggag cctgacaga gatgtcttcg 4680
aggctttgaa ctaggacact cagagatgga agttcttcca ataattcgac accttttgcc 4740
cctgttgatg gtctctctgt tgatactttg cctaacaagg aattcatgct atatggacga 4800
tctgctaata gtccccata tggagggcct gctaatgac caccatatgg aagacctgcc 4860
attgatccac cataatggaag accaatatcc acaatatgga agacctgcca atgatccacc 4920
atatagaaga cctgtcaatg atacatcata ttgagggttg aacaatgatg ggctcgtga 4980
tcaggccccg tcttgagggg ggtcgaatgg ggcgatcgt cggggcccc cgattcccag 5040
ggccccacc tatctgtgca acgagtagta gcgatcttc agcgcgcaac gtgaggcgat 5100

gtttctccgt gatttcgccc gccctgcaact gcgagatcgc gagtataacg atcagccgat 5160
 cgatctcaic tgccgactgc catgctgatg ccacacgcaa gcgcagcata tcagcccttat 5220
 ctiggttgat cggcatgctg gacgagcaca tctgtgtcgc catcaactgc tgactgctat 5280
 atatgtgctg gtgctgaatc gatcgattgt cgtcacggaa gtgaagaaca accacggcac 5340
 tgctgccctgc tgggcctctag ccgccatcag ctgcggagct gatccatgga cgtgaggatt 5400
 accgaagact gtcaggcttc actgggtatc cagggtggctc tgtcgaattg tggattccaa 5460
 atagttaacc ggagtcctgc attgggtgtg gtgggtgtcaa tctagctgag atccgtctgg 5520
 tatagcgtaa gagaacatc atgcactatc cccagtcata accatgcccc aatggccacc 5580
 aatagttttc ctctgtgaaaa tctccccctg atcccagatc tctgggtgcga gagtgaagtt 5640
 gcacgaagcc catcctgggt cttccgagtc cattgtggag atccaggga ttcgggatca 5700
 agtgaaagcc gcacagagcc ttctgcaagg ctctatcggc gcaagcagca acagcaggca 5760
 ggccgccccag tctctctgca tggcccatca tttttagtaa gctggaggac attcgcaaca 5820
 ggggggtcag tggctactgc aaagctgagt ttgttcttca gtccaactgc agaaaaattgc 5880
 agatcggttg ccgtagtctg tagaacggta catagtggcc acctaaactgt agcgagtggc 5940
 ataacttatt gtgtgttact gcccaatgtt gtctctcttt gtgttcatgg attcagactt 6000
 gtgattgtag tatttctgga tcagactgga gtaaaagaaa aaaaaaaaaagg aagacatggg 6060
 tttaacagta aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 6120
 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 6158

<210> 83

<211> 2864

<212> DNA

<213> rice

<400> 83

aagagatcga tcgcgatctc cctgccccga cgtcgccggc cgatctctca ttctctccac 60
 gccctgctcg tcgccgatct cctacaccat ccttgccatc tctctcttcc cctccccctt 120
 atcttccact ggtgcccgcc accctctccgt ataagacaaa ctgcgttgcg gcgttggttt 180
 ccgccggcgc tgctgtctga cctgtcagct agggcgggca tggcgcgccg cgccgccttc 240
 cgcgctgttg gcgcccctcg ctcggaaggc tcgatccaag ggccgaggagg ccgcgcgggg 300

ggcagttggcg ccgaggacgc acgccacgtg ttgcacgaat tgcctccgccg tggcaggggc 360
gcctcgatct acggcttgaa ccgcgccctc gccgacgtcg cgcgtgacag ccccgcggcc 420
gccgtgtccc gctacaaccg catggcccgga gccggcgccg acgaggtaac tcccgacttg 480
tgcacctacg gcattctcat cggttgctgc tgcgcgcgg gccgcttggga cctcggtttc 540
gcggccttgg gcaatgtcat taagaaggga tttagagtgg acgccatcgc cttcactcct 600
ctgctcaagg gcctctgtgc cgacaagagg acgagcgacg caatggacat agtgcctccg 660
agaatgaccg agctcggctg cataccaaatt gtcttctcct acaatatctt tctcaagggg 720
ctgtgtgatg agaacagaag ccaagaagct ctgcagctgc tgcacatgat ggctgatgat 780
cgaggaggag gtagccacc tgaatgtgtg tctgatacca ctgtcatcaa tggcttcttc 840
aaagaggggg attcagacaa agcttacagt acataccatg aaatgctgga cggggggatt 900
ttaccigtatg ttgtgacctt caactctatt attgcctcgt tatgcaaggc tcaagctatg 960
gacaaagcca tggaggtaact taacacatg gtttaagaatg gtgtcatgcc tgattgcatg 1020
acataataata gtattctgca tggatatgtc tcttcagggc agccgaaaga ggctattgga 1080
tttctcaaaa agatgcgcag tgaatgtgtc gaaccagatg ttgttactta tagcttgctc 1140
atggattatc ttgtcaagaa cggaagatgc atggaagcta gaaagatttt cgattctatg 1200
accaagaggg gcctaaagcc tgaattact acctatggta ccttgcttca ggggtatgct 1260
accaaaggag ccttgttga gatgcatggt ctcttggatt tgatggtacg aaacggtatc 1320
caccctgatc attatgtttt cagcattcta atatgtgcat acgctaaaca agggaaagta 1380
gatcaggcaa tgcttgtgtt cagcaaaatg aggcagcaag gattgaatcc gaatgcagtg 1440
acgtatggag cagttatagg catactttgc aagtcaggca gagtagaaga tgctatgctt 1500
tattttgagc agatgatcga tgaaggacta agccctggca acattgttta taactcccta 1560
attcatgggt tgtgcacctg taacaaatgg gagagggtg aagagttaat tcttgaaatg 1620
ttggatcgag gcattctgtc gaacactatt tcttttaatt caataattga cagtcattgc 1680
aaagaaggga gggttataga atctgaaaaa ctctttgagc tgatggtacg tattggtgtg 1740
aagcccaatg tcattacctt caatactctt atcaatggat attgcttggc aggtaagatg 1800
gatgaagcaa tgaagtact tcttggcatg gtctcagttg ggttgaaacc taatactgtt 1860
acttatagca ctttgattaa tggctactgc aaaattagta ggatggaaga cgcgttagtt 1920
ctttttaagg agatggagag cagtgggtgt agtcctgata ttattacgta taacataatt 1980
ctgcaagggt tatttcaaac cagaagaact gctgcctgca aagaactcta tgitaggatt 2040

accgaaagtg gaacgcagat tgaacttagc acatacaaca taatccttca tggactttgc 2100
 aaaaacaaac tcactgatga tgcacttcag atgtttcaga acctatgttt gatggatttg 2160
 aagcttgagg ctaggacttt caacattatg attgatgcat tgcttaaagt tggcagaaat 2220
 gatgaagcca aggatttggt tgttgctttc tcgtctaacg gtttagtgcc gaattattgg 2280
 acgtacaggt tgatggctga aaatattata ggacaggggt tgctagaaga attggaatcaa 2340
 ctctttcttt caatggagga caatggctgt actgttgact ctggcatgct aaatttcatt 2400
 gttagggaac tgttgacagag aggtgagata accagggctg gcacttacct tccatgatt 2460
 gatgagaagc acttttccct cgaagcatcc actgcttcc tgtttataga tcttttgtct 2520
 gggggaaaaat atcaagaata ttataggttt ctccctgaaa aatacaagtc ctttatagaa 2580
 tctttgagct gctgaagcat ttgacagctt tgaaattctg tgttggaatt cttttctcct 2640
 acagtcctat tagaggaggg atcttctctg tatgtgtaaa tagcgaggta tgtatgccac 2700
 ctctccgaat tatttttact gtggttccta gactgtaaac aagcaattat gttatgctgt 2760
 tgatgccaga aaaaacataa aagtttgtcg ttatctctac taacggatca taaagggatt 2820
 tgtgactgga gtttcaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaa 2864

<210> 84

<211> 2819

<212> DNA

<213> rice

<400> 84

ctcatctctt ccacgccctg ctctctgccc atctcctaca ccacccctgc catctcctcc 60
 tccccctccc ctctatcttc cactggctgc gccacctct cgtataaga caaactgcgt 120
 tgcggcggtg gtttccgccc gcgctgctgc tgcacctgic agctagggcg ggcatggcgc 180
 gccgcgccgc tccccgcgt gttggcgccc ttcgctcgga cggctcgatc caaggcgag 240
 gaggccgcgc ggggggcagt ggcgccgagg acgcacgcca cgtgttcgac gaattgctcc 300
 gccgtggcag gggcgccctc atctacggct tgaaccgcgc cctcgccgac gtcgcgcgtg 360
 acagccccgc ggccgccgtg tcccgttaca accgcatggc ccgagccggc gccgacgagg 420
 taactcccga ctgtgtcacc tacggcattc tcatcggttg ctgctgccgc gcgggccgct 480
 tggacctcgg tttcgcggcc ttgggcaatg tcattaagaa gggattttaga gtggacgcca 540

tcgcccttcac tcctctgctc aagggcctct gtgccgacaa gaggacgagc gacgcaatgg 600
 acatagtgtc cgcgagaatg accgagctcg gctgcatacc aaatgtcttc tcctacaata 660
 ttctttctcaa ggggctgtgt gatgagaaca gaagccaaga agctctcgag ctgctgcaca 720
 tgatggctga tgatcgagga ggaggtagcc cacctgatgt gggtctgtat accactgtca 780
 tcaatggctt ctccaagag ggggattcag acaaagctta caglacatac catgaaatgc 840
 tggaccgggg gattttacct gatgttgtga cctacaactc tattattgct gcgttatgca 900
 aggcctcaagc tatggacaaa gccatggagg tacttaacac catggttaag aatgggtgtca 960
 tgccctgattg catgacatat aataglatte tgcattgata ttgctcttca gggcagccga 1020
 aagaggctat tggattttctc aaaaagatgc gcagtgatgg tgtcgaacca gatgttgtta 1080
 cttatagctt gctcatggat tatctttgca agaacggaag atgcatggaa gctagaaaga 1140
 ttttcgattc tatgaccaag aggggcctaa agcctgaaat tactacctat ggtaccctgc 1200
 ttcaggggta tgctaccaa ggagcccttg ttgagatgca tggctctctg gatttgatgg 1260
 tacgaaacgg tatccacct gatcattatg ttttcagcat tctaataatgt gcatacgcta 1320
 aacaaggga agtagatcag gcaatgcttg tgttcagcaa aatgaggcag caaggattga 1380
 atccgaatgc agtgacgtat ggagcagtta taggcatact ttgcaagtca ggcagagtag 1440
 aagatgctat gctttatctt gagcagatga tcgatgaagg actaagccct ggcaacattg 1500
 tttataactc cctaattcat ggtttgtgca cctgtaacaa atgggagagg gctgaagagt 1560
 taattcttga aatgttggat cgaggcatct gtctgaacac tattttcttt aattcaataa 1620
 ttgacagtca ttgcaaagaa gggagggta tagaatctga aaaactcttt gagctgatgg 1680
 tacgtattgg tgtgaagccc aatgtcatta cctacaatac tcttatcaat ggatattgct 1740
 tggcaggtaa gatggatgaa gcaatgaagt tactttctgg catggcttca gtgggttga 1800
 aacctaatc tgttacttat agcactttga ttaatggcta ctgcaaaatt agtaggatgg 1860
 aagacgcgtt agttcttttt aaggagatgg agagcagtgg tgttagtcct gatattatta 1920
 cgtataacat aattctgcaa ggtttatctc aaaccagaag aactgctgct gcaaaagaac 1980
 tctatgttag gattaccgaa agtggaaacg agattgaact tagcacatac aacataatcc 2040
 ttcattggact ttgcaaaaac aaactcactg atgatgcact tcagatgttt cagaacctat 2100
 gtttgatgga ttggaagctt gaggctagga ctttcaacat tatgatgat gcattgctta 2160
 aagttggcag aatgatgaa gccaaaggat tgtttgttgc tttctcgtct aacggtttag 2220
 cgaatta ttggacgtac aggttgatgg ctgaaaatat tataggacag gggttgctag 2280

aagaatigga tcaactcttt ctttcaatgg aggacaatgg ctgtactgtt gactctggca 2340
 tgctaaattt cattgttagg gaactgttgc agagagggtga gataaccagg gctggcactt 2400
 acccttccat gattgatgag aagcactttt ccttcgaagc atccactgct tccttgttta 2460
 tagatctttt gtctggggga aaatatcaag aatattatag gtctctccct gaaaaataca 2520
 agtcccttat agaactcttg agctgctgaa gcattttgca gccttgaaat tctgtgttgg 2580
 aattcttttc tcctacagtc ctattagagg agggatcttc tctgtatgtg taaatagcga 2640
 ggtatgtatg ccaccctccc gaattatitt tactgtgggt cctagactgt aaacaagcaa 2700
 ttatgttatg ctgttgatgc cagaaaaaac ataaaagtgt gtcgttatct ctactaacgg 2760
 atcataaagg gatttgtgac tggagtttca aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2819

<210> 85

<211> 2649

<212> DNA

<213> rice

<400> 85

ggtgccgccc acctctccgt ataagacaaa ctgcgttgcg gcgttggttt ccgccggcgc 60
 tgctgtcga cctgtcagct agggcgggca tggcgcgccg cgccgcctcc cgcgctgttg 120
 gcgcccttcg ctccgacggc tcgatccaag ggcgaggagg ccgcgcgggg ggcagtggcg 180
 ccgaggacgc acgccacgtg ttccgacgaat tgcctccgcc tggcaggggc gcctcgatct 240
 acggcttgaa ccgcgccctc gccgacgtcg cgcgtgacag ccccgcggcc gccgtgtccc 300
 gctacaaccg catggccccga gccggcgccg acgaggtaac tcccgaattg tgcacctacg 360
 gcattctcat cggttgcctg tgcgcgcggg gccgcttgga cctcggtttc gcggccttgg 420
 gcaatgtcat taagaaggga tttagagtgg acgccatcgc cttcactcct ctgtcgaagg 480
 gcctctgtgc cgacaagagg acgagcgacg caatggacat agtgctccgc agaataaccg 540
 agctcggctg cataccaaat gctttctcct acaatatctt tctcaagggg ctgtgtgatg 600
 agaacagaag ccaagaagct ctccgagctg tgcacatgat ggctgatgat cgaggaggag 660
 gtagccacc tgatgtgggt tcgtatacca ctgtcatcaa tggcttcttc aaagaggggg 720
 attcagacaa agcttacagt acataccatg aaatgctgga ccgggggatt ttacctgatg 780
 ttgtgacctt caactctatt attgcctgct tatgcaaggc tcaagctatg gacaaagcca 840

iggaggiact taacaccatg gtttaagaatg gtgtcatgcc tgattgcatg acatataata 900
gtattctgca tggatatatgc tcttcagggc agccgaaaga ggctattgga tttctcaaaa 960
agatgcgcag tgaiggtgtc gaaccagatg ttgttactta tagcttgctc atggattatc 1020
tttgcaagaa cggaagatgc atggaagcta gaaagatttt cgattctatg accaagaggg 1080
gcctaaagcc tgaattact acctatggta ccctgcctca ggggtatgct accaaaggag 1140
cccttggtga gatgcatggt ctcttggatt tgatggtacg aaacgggtatc caccctgac 1200
attatgtttt cagcattcta atatgtgcat acgctaaaca agggaaagta gatcaggcaa 1260
tgcttgtgtt cagcaaaatg aggcagcaag gatigaatcc gaatgcagtg acgtatggag 1320
cagttatagg catacittgc aagtcaggca gagtagaaga tgctatgctt tattttgagc 1380
agatgatcga tgaaggacta agccctggca acatigttta taactcccta attcatgggt 1440
tgigcacctg taacaaatgg gagagggctg aagagttaat tcttgaaatg ttggatcgag 1500
gcatctgtct gaacactatt ttcctttaatt caataatga cagtcattgc aaagaaggga 1560
gggttataga atctgaaaaa ctctttgagc tgatggtacg tattggtgtg aagcccaatg 1620
tcattaccta caatactctt atcaatggat attgcttggc aggtaagatg gatgaagcaa 1680
tgaagtact tcttggtatg gtctcagttg ggttgaaacc taatactgtt acttatagca 1740
ctttgatata tggctactgc aaaattagta ggatggaaga cgcgttagtt ctttttaagg 1800
agatggagag cagtggtgtt agtcctgata ttattacgta taacataatt ctgcaagggt 1860
tatttcaaac cagaagaact gctgctgcaa aagaactcta tgttaggatt accgaaagtg 1920
gaacgcagat tgaacttagc acatacaaca taatccctca tggactttgc aaaaacaaac 1980
tcactgatga tgcacttcag atgtttcaga acctatgttt gatggatttg aagcttgagg 2040
ctaggacttt caacattatg attgatgcat tgcctaaagt tggcagaaat gatgaagcca 2100
aggatttggt tgttgctttc tcttctaacg gtttagtgcc gaattatttg acgtacaggt 2160
tgatggctga aaataattata ggacaggggt tgctagaaga attggatcaa ctctttcttt 2220
caatggagga caatggctgt actgttgact ctggcatgct aaatttcatt gttagggaac 2280
tgttgcagag aggtgagata accagggctg gcacttacct tccatgatt gatgagaagc 2340
acttttccct cgaagcatcc actgcttcc tgtttataga tcttttgtct gggggaaaat 2400
atcaagaata ttatagggtt ctccttgaaa aatacaagtc ctttatagaa tctttgagct 2460
gctgaagcat tttgcagctt tgaattctg tgttggaaat cttttctcct acagtcctat 2520
tagaggaggg atcttctctg tatgtgtaaa tagcgaggta tglatgccac ctctccgaat 2580

tatittttact gtgggttccta gactgttaaac aagcaattat gttatgctgt tgatgccaga 2640
aaaaaaaaa 2649

<210> 86

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 86

cagttggggtt gaaacctaactg 24

<210> 87

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 87

cactaaaccg ttagacgaga aagc 24

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP03/03154

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
Int.Cl⁷ C12N15/29, C12Q1/68 // A01H1/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
Int.Cl⁷ C12N15/29, C12Q1/68 // A01H1/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
SwissProt/PIR/GeneSeq, Genbank/EMBL/DDBJ/GeneSeq,
BIOSIS/WPI (DIALOG)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 2000-139465 A (MITSUI CHEM. INC.), 23 May, 2000 (23.05.00), (Family: none)	1-13
A	WO 02/14506 A1 (JAPAN TOBACCO INC., SYNGENTA LTD. ZENECA LTD.), 21 February, 2002 (21.02.02), & AU 200178745 A & JP 2002-345485 A	1-13
P,A	Komori T. et al., Fine genetic mapping of the nuclear gene, <i>RF-1</i> , that restores the BT-type cytoplasmic male sterility in rice (<i>Oryza sativa</i> L.) by PCR-based markers. Euphytica 2003, Vol.129, No.2, pages 241 to 247	1-13

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

<p>* Special categories of cited documents:</p> <p>"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>"E" earlier document but published on or after the international filing date</p> <p>"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</p> <p>"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p>	<p>"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention</p> <p>"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone</p> <p>"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art</p> <p>"&" document member of the same patent family</p>
--	---

Date of the actual completion of the international search
26 May, 2003 (26.05.03)

Date of mailing of the international search report
24 June, 2003 (24.06.03)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ C12N15/29, C12Q1/68//A01H1/00

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ C12N15/29, C12Q1/68//A01H1/00

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

SwissProt/PIR/GeneSeq, Genbank/EMBL/DDBJ/GeneSeq,
BIOSIS/WPI(DIALOG)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	JP 2000-139465 A(MITSUI CHEM INC)2000.05.23 ファミリーなし	1-13
A	WO 02/14506 A1(JAPAN TOBACCO INC, SYNGENTA LTD, ZENECA LTD) 2002.02.21 & AU 200178745 A & JP 2002-345485 A	1-13
PA	Komori T. et al., Fine genetic mapping of the nuclear gene, <i>Rf-1</i> , that restores the BT-type cytoplasmic male sterility in rice(<i>Oryza sativa</i> L.) by PCR-based makers. Euphytica 2003, Vol. 129, No. 2, p. 241-247	1-13

☐ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

26.05.03

国際調査報告の発送日

24.05.03

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

本間 夏子



4N

9637

電話番号 03-3581-1101 内線 3488